

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

CHARAKTERIZACE KARAGENANU DENSITOMETRIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

HALINA POLEDŇÁKOVÁ

BRNO 2015



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

CHARAKTERIZACE KARAGENANU DENSITOMETRIÍ

CHARACTERIZATION OF CARRAGEENAN BY DENSITOMETRY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

HALINA POLEDŇÁKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. ANDREA KARGEROVÁ, Ph.D.

BRNO 2015



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0822/2014	Akademický rok: 2014/2015
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka):	Halina Poledňáková	
Studijní program:	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor:	Spotřební chemie (2806R002)	
Vedoucí práce	Ing. Andrea Kargerová, Ph.D.	
Konzultanti:		

Název bakalářské práce:

Charakterizace karagenanu densitometrií

Zadání bakalářské práce:

1. Seznámit se s densitometrií
2. Navrhnout experimenty zkoumající vliv koncentrace a teploty na hustotu a ultrazvukovou rychlost roztoků karagenanu
3. Realizovat a vyhodnotit experimenty.
4. Zhodnotit výsledky z hlediska chování karagenanu v roztoku.

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2015

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Halina Poledňáková
Student(ka)

Ing. Andrea Kargerová, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30.1.2015

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Denzitometricky byla zkoumána hustota roztoků karagenanu v závislosti na koncentraci a teplotě roztoků. Následně byla zkoumána ultrazvuková rychlost rovněž denzitometricky a pomocí ultrazvukové spektroskopie s vysokým rozlišením (HRUS). Na měření byly použity vzorky karagenanu ve vodě a v chloridu sodném o široké škále koncentrací.

Experimentálně bylo zjištěno, že vzorky karagenanu nepodléhají nevratným změnám hustoty a ultrazvukové rychlosti v závislosti na teplotě a koncentraci. Dále bylo prokázáno, že karagenan je v obou prostředích stabilní, nedochází k degradaci a změnám vlastností působením iontové síly.

ABSTRACT

The density of the carrageenan solution was investigated by densitometry depending on temperature and concentration. Subsequently, ultrasonic velocity was examined using densitometry and high-resolution ultrasonic spectroscopy. The measurements were executed using aqueous and sodium chloride solutions of carrageenan in a broad range of concentrations.

It was found that the carrageenan samples are not liable to irreversible changes of density and ultrasonic velocity in dependence on temperature and concentration. Furthermore, it was proved that carrageenan in both mediums is stable, the samples do not exhibit degradation or changes in the properties of the ionic strength effect.

KLÍČOVÁ SLOVA

densitometrie, ultrazvuková spektroskopie s vysokým rozlišením (HRUS), karagenan, hustota, ultrazvuková rychlost

KEYWORDS

densitometry, high resolution ultrasonic spectroscopy (HRUS), carrageenan, density, ultrasonic velocity

POLEDŇÁKOVÁ, H. *Charakterizace karagenanu densitometrií*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 51 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Andrea Kargerová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

*Ráda bych poděkovala především své vedoucí bakalářské práce paní Ing. Andree Kargerové Ph.D. za odbornou pomoc, nekonečnou trpělivost a celkový čas, který mi věnovala. Dále bych chtěla poděkovat panu profesorovi Ing. Miloslavu Pekařovi, CSc., za inspirativní pohled na studované téma. Také bych chtěla poděkovat své rodině za podporu během studia a přátelům, kteří mi poskytli potřebné zázemí.
Díky všem!*

OBSAH

1	ÚVOD	6
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	7
2.1	Karagenan.....	7
2.1.1	Historie	7
2.1.2	Původ a chemické složení	7
2.1.3	Druhy karagenanu	9
2.1.4	Molekulární interakce	10
2.1.5	Výroba karagenanu	12
2.1.6	Využití karagenanu	13
2.1.7	Bezpečnost práce s karagenanem.....	13
2.2	Densitometrie.....	14
2.2.1	Princip měření	14
2.2.2	Praktické použití.....	15
2.3	Ultrazvuková spektroskopie s vysokým rozlišením (HRUS).....	15
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	17
3.1	Použité chemikálie.....	17
3.2	Příprava zásobních roztoků	17
3.3	Příprava vzorků.....	18
3.4	Vlastní měření hustoty a ultrazvukové rychlosti densitometricky	18
3.5	Vlastní měření rychlosti zvuku ultrazvukem s vysokým rozlišením (HRUSem)	19
3.6	Výsledky a diskuse	20
3.6.1	Měření hustoty a ultrazvukové rychlosti karagenanu densitometrií	20
3.6.2	Měření rychlosti zvuku ultrazvukem s vysokým rozlišením (HRUSem)	29
3.6.3	Porovnání metod	34
4	ZÁVĚR.....	35
5	CITACE	37
6	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	40
7	PŘÍLOHA.....	41

1 ÚVOD

V karagenanech, z anglického carrageenans (zkráceně karageny), jsou polysacharidy extrahované horkou vodou z určitých rodů červených mořských řas, jako jsou *Chondrus*, *Gigartina*, řasa druhu *Furcellaria*, *Phyllophora* atd. Karagenan je především používán jako emulgátor (E 407), pojivo a stabilizátor v pozoruhodně širokém rozsahu produktů v potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Poptávka po karagenanu vzrostla s poptávkou pro zpracované potraviny, neboť výzkum prováděný během druhé světové války ukázal, že karagen je vhodná náhražka agaru, který byl v té době nejpopulárnější koloid pro zpracování potravin. Avšak téměř tři desetiletí byla výroba karagenanu omezena dostupností přírodních zásob řasy *Chondrus crispus* (také známý jako Irský mech) z Kanady, Irska, z Jižní Ameriky a jižní Evropy.

Strukturou se karagenan řadí mezi polysacharidy, sestává především z draselných, sodných, hořečnatých a vápenatých sulfátových galaktóz a 3,6-anhydridgalaktóz. Tyto hexózy jsou střídavě spojeny $\alpha-1,3$ a $\beta-1,4$ vazbou v kopolymeru. Nejrozšířenější polysacharidy v karagenanu jsou označovány jako kappa, lambda a iota, a to v závislosti na počtu síranů navázaných na opakující se jednotku polysacharidu (tj. 1,2,3 sulfát). V průběhu výrobního procesu se nesmí použít jiná organická srážecí činidla nežli methanol, ethanol a propan-2-ol. Označení karagenan je vyhrazeno pro nehydrolyzovaný nebo jiným způsobem chemicky upravený polymer.

Výzkum karagenanu je v současnosti zaměřen na použití karagenanu jako nosiče léků pro boj s rakovinou. Dále jsou karagenany používány k potlačení imunitní odpovědi in vivo a in vitro na mechanismus selektivního cytopatického účinku virů (HIV) na makrofágy. Negelující λ -karagenan se používá injekčně do spár hlodavců k vyvolání zánětu, čímž se modeluje artritická bolest.

Tato práce je zaměřena na popis závislostí hustoty a ultrazvukové rychlosti na široké škále koncentrací karagenanu při různé teplotě denzitometrickou metodou. Dále pojednává o měření ultrazvukové rychlosti v závislosti na koncentraci karagenanu a teplotě pomocí ultrazvuku s vysokým rozlišením (HRUS). Obě metody zahrnují závislosti pro karagenan ve vodném prostředí a v prostředí chloridu sodného. Každé měření probíhalo opakovaně (nejméně dvakrát). Zatím neproběhly žádné podobné studie karagenanu jinou metodou pro případné srovnání.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Karagenan

2.1.1 Historie

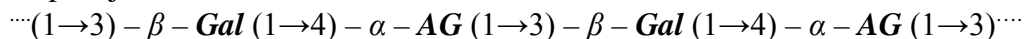
Zhruba před 600 roky lidé žijící podél pobřeží Carragheen County na jižním pobřeží Irska začali používat rostlinu, známou také jako Irský mech či přímo karagenový mech (irsky carraigín nebo také "little rock") v potravinách, při přípravě léčiv a jako hnojivo. Následně došlo k rozšíření použití na mléčné výrobky (zejména byl karagenan přidáván do mléka s cukrem). Roku 1819 pan Dawson Turner ve své práci uvedl experimenty s červenou řasou, kdy nechal řasu projít varem, došlo k roztavení a následnému zchladnutí do podoby želatiny. První pokusy o izolaci polysacharidového extraktu z irského mechu byly zaznamenány v roce 1837, čištění alkoholovým srážením bylo provedeno v roce 1871. Pan Stanford (1862) používal název "karageninem" pro popis extraktu z *Chondrus crispus*. Současný pravopis "karagenan" doporučil a přijal výbor pro nomenklaturu sacharidů American Chemical Society, aby název byl v souladu s použitím -an přípony pro název polysacharidů. Na základě dobrých želírovacích vlastností se roku 1930 začal vyrábět extrakt v několika firmách na východním pobřeží Spojených států amerických. Roku 1840 byla poprvé vyvinuta prášková forma karagananu. Od 19. století byl karagenan již široce používán jako médium v mnoha potravinách a mléčných výrobcích. Irský mech se rychle rozšířil, což vedlo například k jeho uznání jako součásti přirozené flóry u pobřeží Massachusetts [1.], [2.].

2.1.2 Původ a chemické složení

Karagenan je ve vodě rozpustný hydrokoloid získaný extrakcí z mořských řas (*Rhodophyceae*). Nachází se v buněčné stěně, jeho obsah a složení se mění v závislosti na druhu a sezoně. Komerčně jsou nejčastěji využívány rody *Euchema*, *Chondrus* a *Gigantina*. Řasy rodu *Euchema* (*E. cottonii*, *E. spinosum*) rostou na korálových útesech do výšky 0,5 metrů, jsou rozšířeny v tropických oblastech Tichého oceánu, na Filipínách a v Indonésii. Řasy *Chondrus crispus* s typicky tmavě červenou barvou, známé především pod jménem Irský mech, dorůstají do délky 0,1 metrů. Jejich výskyt je rozšířen v různých oblastech světa, původ má tento druh v Irsku, odtud se rozšířil podél pobřeží severního Atlantiku (hlavně v Kanadě), v Maroku a ve Francii. V Chile, Argentíně, Mexiku a Brazílii je pěstován rod *Gigantina*, který je schopen dosahovat výšky až 5 metrů [3.], [4.].

Karageny jsou deriváty polysacharidů složené z opakujících se lineárních řetězců galaktózových jednotek se záporným nábojem. Ve své základní struktuře (na rozdíl od agaru) zahrnují kromě β -D-galaktózy (D-galakopyranózy) také 3,6-anhydrid- α -D-galaktózu (3,6-anhydridgalaktózu) [5.]. Součástí derivátů jsou síranové skupiny, které jsou zde na rozdíl od obsahu v agaru zastoupeny v mnohem větším počtu (obvykle 20 – 30 hm.%), a jsou zodpovědné za náboj, tudíž mají z velké části vliv na reakci s vodou. Karagenany mají gelující vlastnosti, s vodou tvoří roztoky s vysokou viskozitou a jsou stabilní v širokém rozsahu pH. Průměrná relativní hmotnost polydisperzních karagenanů (především kapa, iota a lambda) se pohybuje od 100 do 1 000 kDa [6.]. Relativní molekulovou hmotnost ovlivňují fyzikálně-chemické a biologické vlastnosti karagananu. Je určována monomerní kompozicí a typem funkční skupiny zabudované do makromolekul, což vysvětluje široký rozsah molekulové hmotnosti karagenanů, v některých sloučeninách dosahuje až 1800 kDa.

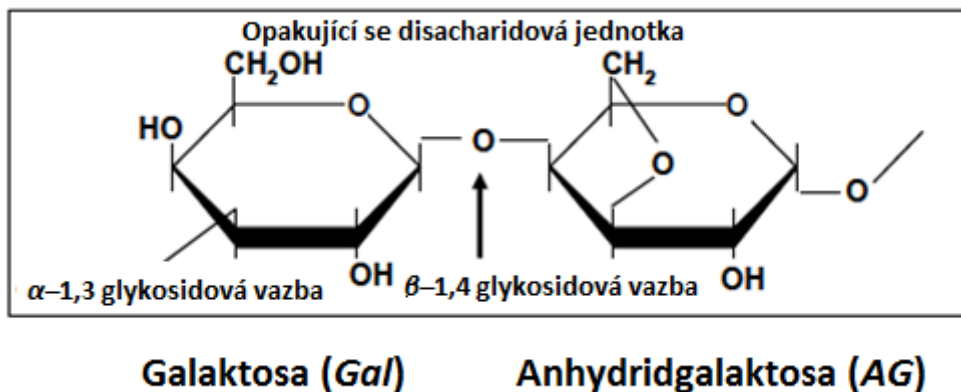
Základní opakující se sekvence:



Kde **Gal** vyjadřuje D-galaktózu a její deriváty

AG nese označení pro 3,6-anhydrid-D-galaktózu a její deriváty

Opakující se jednotky D-galaktózy a 3,6-anhydrid-D-galaktózy jsou spojeny β – glykosidickou vazbou, tyto dimery jsou pak propojeny α – glykosidickou vazbou, což je znázorněno na **Obrázku 1**. Sekundární struktura má židličkovou konformaci, aby se minimalizovalo sterické odpuzování způsobené axiálními složkami [7.]. Zodpovědnost za tvorbu gelu má 3,6-anhydrid-D-galaktóza, která v karagenanu umožňuje vznik terciální struktury ve tvaru pravotočivé dvoušroubovice, kdy spolu dva lineární disacharidové řetězce vzájemným působením vytvoří rovnoběžné vlákno, které se ohýbá do konformace pravotočivé dvoušroubovice. Obsah 3,6-anhydrid-D-galaktózy v karagenanu zvyšuje pružnost, může docházet k reverzibilním změnám z lineární konformace (α – helix) do klubka, tedy přechod mezi gelem a roztokem.



Obrázek 1: Znázornění β – 1,4 glykosidické vazby mezi monomery galaktózy a anhydridgalaktózy v karagenanu. Následuje propojení mezi disacharidovými jednotkami prostřednictvím α – 1,3 glykosidové vazby [5.].

Kromě galaktóz a síranů je karagenan složený z dalších sacharidových zbytků, jako příklad lze uvést xylózy, glukózy či uronové kyseliny. Ve struktuře se rovněž mohou objevit substituenty, jako jsou methyly, ethery nebo skupiny pyruvátů. Karagenan je přírodní látka tvořená směsí nehomologních polysacharidů, složité struktury jsou pojmenovávány pomocí disacharidů (dimerů). Z pojmenování dle nejčastěji se opakujících jednotek vyplývá značná idealizace struktury. Typy karagenu jsou tradičně označeny řeckým prefixem, jedná se o 8 typů sekvencních struktur. Jednotlivé zastoupení stavebních jednotek v dimeru uvádí **Tabulka 1** [2.], [5.], [7.].

Tabulka 1: Složení jednotlivých druhů monomerů v molekulách karagenanu.

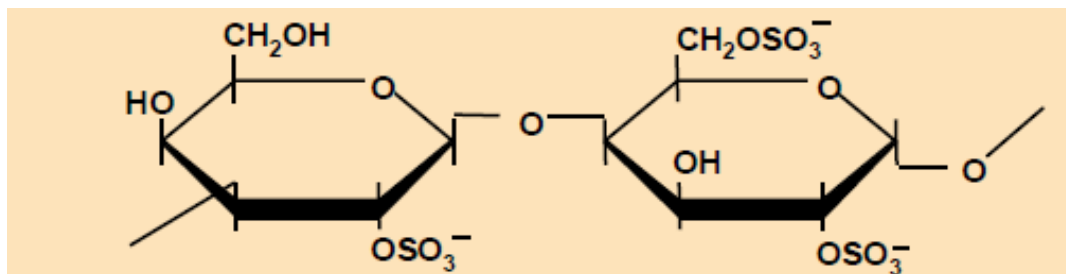
Polysacharid	Stavební jednotka	
	Gal	AG
λ – karagenan	β -D-galaktosa-2-sulfát	α -D-galaktosa-2,6-disulfát
κ – karagenan	β -D-galaktosa-4-sulfát	3,6-anhydrid- α -D-galaktosa
ι – karagenan	β -D-galaktosa-4-sulfát	3,6-anhydrid- α -D-galaktosa-2-sulfát
μ – karagenan	β -D-galaktosa-4-sulfát	α -D-galaktosa-6-sulfát
θ – karagenan	β -D-galaktosa-2-sulfát	3,6-anhydrid- α -D-galaktosa-2-sulfát
ξ – karagenan	β -D-galaktosa-2-sulfát	α -D-galaktosa-2-disulfát
ν – karagenan	β -D-galaktosa-4-sulfát	α -D-galaktosa-2,6-disulfát
β – karagenan	β -D-galaktosa	3,6-anhydrid- α -D-galaktosa

2.1.3 Druhy karagenanu

Nejpoužívanější karagenany jsou kappa (κ), lambda (λ) a iota (ι), které jako jediné mají želírovací či stabilizační schopnosti, jejich použití je tudíž široce rozšířeno. Důležitou roli pro určení povahy karagenanu hrají podmínky okolí. Závisí především na teplotě, obsahu a druhu iontů a pH. První dva aspekty jsou individuální, pH se s ohledem na stabilitu prostředí snažíme udržovat okolo 5 – 10, protože v kyslejších prostředí dochází k hydrolýze, čímž se snižuje disperzita systému [2.], [7.].

Lambda-karagenan (λ)

Na jeden disacharid obsahuje 3 sulfátové skupiny, což je nejvyšší zastoupení ze tří zkoumaných druhů (až 35 hm. %). Ve své molekule postrádá hydrofobní 3,6-anhydrid-D-galaktózu, není proto schopen vytvořit strukturu α – helixu. Z toho vyplývá, že netvoří gely, je však široce používán jako stabilizátor v mnoha aplikacích při úpravě potravin. Jeho hlavní výhodou je, že k úplnému rozpuštění ve vodě dochází již za normální teploty 20 °C, díky vysokému obsahu sulfátů. Další specifickou vlastností je imunita vůči působení draselných a vápenatých iontů. Základní disacharidová jednotka je vykreslena na **Obrázku 2** [2.], [7.], [9.].

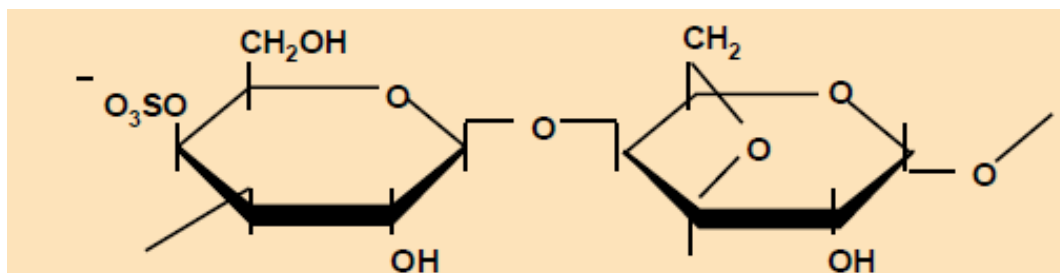


Obrázek 2: Molekulární struktura lambda (ι) karagenanu [4.].

Kappa-karagenan (κ)

Na galaktózové jednotce je navázána jedna sulfátová skupina (přibližně 25 – 35 hm. %), jak zřejmé z **Obrázku 3**. Díky přítomnosti 3,6-anhydrid-D-galaktózy je kappa-karagenan schopný tvořit odolnou termoreverzibilní gelovou strukturu zcela sám, kdy z konformace rozvětveného klubka v horkém roztoku (60 °C) dojde ochlazením na 40 °C k přeměně

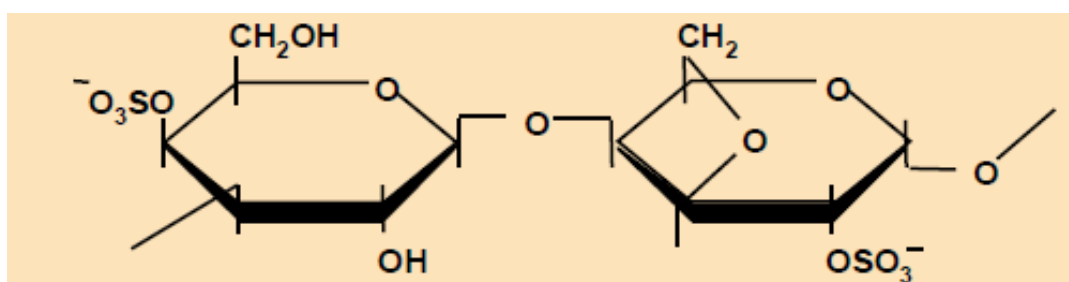
konformace na pravotočivou dvoušroubovici, tento proces je znázorněn na **Obrázku 5**. Porovnání želatinizace v roztocích různých solí kappa–karagenanu ukázalo, že účinnost gelovatění, teplota tání a síla gelu úzce souvisí s výběrem vhodného iontu. V přítomnosti K^+ iontů tvoří silné a tuhé gely, s relativně vysokou teplotou tání. Tyto gely jsou velmi náchylné k synerezi. Oproti tomu s ionty Na^+ a Li^+ kappa–karagenan negelovatí, ale takové soli jsou dobře rozpustné ve studené vodě. S ionty Ca^{2+} dochází k tvorbě kalného, křehkého gelu [2.], [7.], [9.].



Obrázek 3: Molekulární struktura kappa (κ) karagenanu [4.].

Iota–karagenan (ι)

Obsahuje v dimeru 2 sulfátové skupiny (30 – 32 hm. %). Rovněž je schopen tvořit gelové struktury (obsahuje 3,6–anhydrid–D–galaktózu), oproti kappa–karagenanu je však pro tvorbu gelu nezbytná přítomnost iontů. Přechod na konformaci dvoušroubovice probíhá okolo 50 °C. Draselnými ionty je ovlivněn jen nepatrně, zato se sodíkovými a vápenatými ionty tvoří silné, pružné, termoreversibilní gely s omezenou synerezí. Kationty formulují iontové mosty mezi dvojími šroubovicovými, vznikají agregáty zvyšující gelovitost a teplotu tání. Celkově je takový gel flexibilnější a stabilní při okolní teplotě, což je žádoucí v mnoha aplikacích potravin. Vzorec základního dimeru iota karagenanu je znázorněn na **Obrázku 4** [2.], [7.], [9.].



Obrázek 4: Molekulární struktura iota (ι) karagenanu [4.].

2.1.4 Molekulární interakce

Karagenan je schopen tří způsobů molekulární interakce. První z nich je hydratace a rozpuštění, další je schopnost gelovatění a poslední je interakce s molekulami další složky (např. potravin). Pro každou interakci je rozhodující výběr správného druhu karagenanu, volí se tak, aby svými vlastnostmi přispíval k zesílení požadované interakce. Kappa a iota karagenany komunikují prostřednictvím všech tří režimů, lambda–karagenan není schopen tvořit gel, využívá se však hojně v masném průmyslu, kde dochází k interakci s proteiny. Molekula karagenanu má silnou schopnost vázat vodu, např. jediný gram kappa–karagenanu je schopen hydratovat 50 g [10.]. Dispergovaný karagenan se ve vodném roztoku začne

hydratovat prostřednictvím elektrostatických interakcí vody s negativně nabitými skupinami síranu, a také navázáním vodíkových vazeb mezi vodou a hydroxylovými skupinami na polymerním řetězci. Zvyšováním hydratace se začnou karagenanové částice rozpouštět a vytvoří se z nich koloidní částice. Všechny karagenany jsou schopny vázat vodu a bobtnat i při teplotě místnosti, nemusí však dojít k úplnému rozpuštění, pro úplnou hydrataci kappa a iota karagenanu je potřeba vždy roztok zahřát (na 80 °C). Lambda–karagenan se rozpouští snadno i za normálních teplot za vzniku viskózních roztoků. Rozpustnost karagenanu ve vodě závisí také na obsahu solí, pH a teplotě. V prostředí organických rozpouštědel, olejů či tuků jsou karagenany nerozpustné.

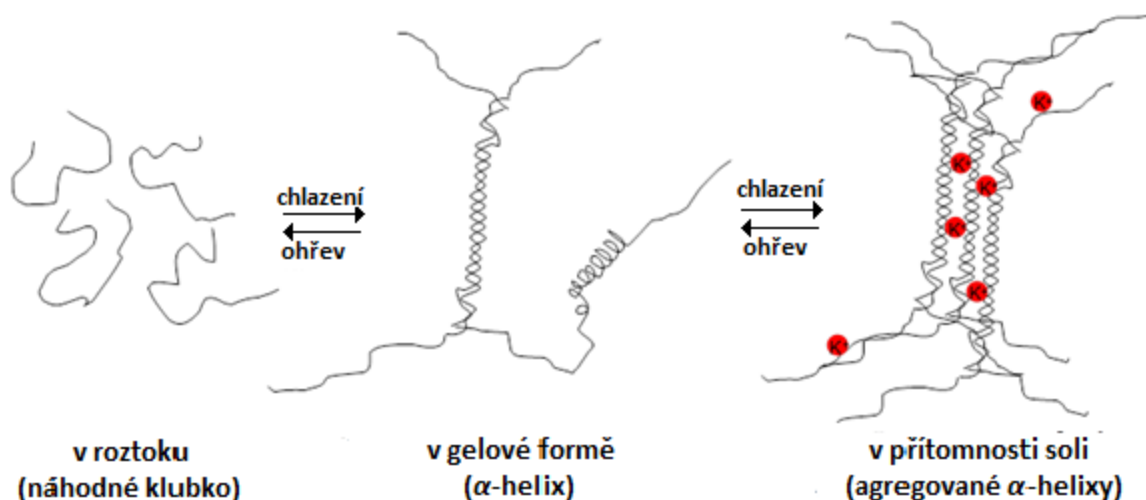
Jak již bylo řečeno, gelotvorné jsou pouze kappa a iota karagenany, neboť obsahují 3,6–anhydrid–D–galaktózu schopnou tvořit vazby mezi disacharidovými řetězci. Želatinizace je vysoce závislá na koncentraci, přítomnosti kationtů a teplotě. Aby došlo ke zgelování, tedy vytvoření pravotočivých dvoušroubovicových struktur, jenž agregují a dochází k vzniku polymerních sítí, je nutné mít karagenan v roztoku zcela rozpuštěný (nutno jej ohřát).

Sdružování do pevnějších gelových struktur je pro iota–karagenan zprostředkováno ionty. Kationty neutralizují negativně nabitě síranové skupiny a mohou nastat intermolekulární interakce. Roztok se ochladí, intramolekulární vodíkové vazby se stabilizují za vzniku dvoušroubovice. Pomocí rentgenové spektroskopie bylo dokázáno, že dvoumocné vápenaté ionty jsou připojeny iontovou vazbou na dvě sulfátové skupiny v různých šroubovicích.

Pro vytvoření gelu z kappa–karagenanu stačí roztok ochladit, čímž dojde k vytvoření struktury pravotočivé dvoušroubovice, kde mezimolekulární interakce brání zpětnému skládání a sdružování řetězců do klubkové formace. Intramolekulární asociace dvoušroubovic tvořících pevnou gelovou strukturu však stále nejsou úplně objasněny, spekuluje se nad podílem povrchových interakcí. Vezmeme-li však v úvahu velké vzdálenosti mezi řetězci, je nepravděpodobné, že by při tvorbě dvoušroubovicových struktur hrály roli například Van der Waalsovy síly. Sdružování do pevnějších domén je usnadněno ionty. Sulfátová skupina v dvoušroubovici tíhne k interakci s jednomocnými draselnými kationty, iontová vazba mezi nimi byla prokázána pomocí infračervené spektroskopie. Pomocí těchto vazeb dochází ke spojení mezi dvěma až třemi dvoušroubovicemi (tvorba agregátů). Vznikají tak tuhé a křehké gely s vysokou mírou synereze. Princip gelování kappa–karagenanu znázorňuje **Obrázek 5**.

Důvodem pro kationtovou specifitu jsou zřejmě konformační a konfigurační rysy ι a κ karagenanů, ačkoliv stále ještě neexistuje kompletní pochopení toho, jak iontové vazby ovlivňují helixiální strukturu karagenanu během gelování. Ve většině případů se používá spojení vlastností λ a κ typu karagenanu, kdy dochází ke vzniku krémové suspenze či gelu, vhodné například pro mléčné výrobky [5.], [7.], [9.], [11.], [12.].

Interakce s bílkovinami je založená na tvorbě specifických komplexů, s velmi individuálním přístupem k jednotlivým sloučeninám. Důležitý význam mají v technologii výroby potravin (např. sýrů, masa), zde uplatňují svou schopnost ovlivňovat a stabilizovat konzistenci [13.].



Obrázek 5: Charakterizace struktury kappa karagenanu v roztoku v závislosti na teplotě a obsahu solí [12.].

2.1.5 Výroba karagenanu

Výroba karagenanu z mořských řas probíhá dvěma způsoby. Původní metoda je založena na extrakci mořské řasy v roztoku a její následné odstranění filtrací. Karagenan se z roztoku izoluje a převádí do suché formy, jež obsahuje zcela čistý karagenan, jedná se o nákladný proces.

Druhý způsob je založen na umytí mořských řas a jejich rozpuštění v alkalické vodě, v roztoku jsou tedy obsaženy zbylé nerozpustné látky (především celulóza) a karagenan. Tento nerozpustný zbytek se potom suší a prodává se jako polorafinovaný karagenan (SRC). Díky tomu, že karagenan nemusí být z roztoku extrahován, se jedná o levnější a rychlejší variantu výroby [2.], [3.].

Karagenan (rafinovaný, E 407)

Pro výrobu čistého karagenanu se mořské řasy promyjí pro odstranění písku, solí a dalších znečišťujících složek. Následně se řasa po dobu několika hodin (doba vaření je optimálně 4 hodiny, přičemž teplota se udržuje nejméně na 70 °C) vaří v alkalické vodě, obvykle se používá hydroxid sodný, dokud řasy nejsou extrahovány. Používání alkalické vody vede ke zvýšení pevností gelu v konečném produktu (odstraní se některé síranové molekuly a dochází k zvyšování obsahu nesubstituovaných 3,6-anhydrid-D-galaktóz). Nerozpuštěné zbytky mořské řasy se odstraní odstředováním či hrubou filtrací. Následuje vysokotlaká filtrace se ziskem 1 – 2 hm. % karagenanu a poté se roztok zkoncentruje ultrafiltrací a vakuovou destilací (karagenan v obsahu 2 – 3 hm. %). Pro získání pevného karagenanu z roztoku je možné použít alkoholové srážení. To probíhá přidáváním alkoholu (isopropanolu, methanolu či ethanolu) do roztoku karagenanu, který se vysráží a oddělí v odstředivce. Koagulát je lisován, poté znovu promyt alkoholem a dehydratován. Nakonec se produkt suší a mele na požadovanou velikost částic. Pro kappa-karagenan získávaný z řasy *Kappaphycus alvarezii* lze využít metodu zgelovatění, kdy karagenan reaguje s draselnými solemi za vzniku gelu, který je lisováním, zmražením a rozmražením dehydratován do pevné formy. Princip metody popisuje **Obrázek 5** [3.], [14.], [15.].

Semi-rafinovaný karagenan (SRC)

Nazýván také „mouka“ se vyrábí zahříváním v roztoku alkalické soli (např., hydroxid draselný) přibližně dvě hodiny. Hydroxid rovněž proniká do struktury mořské řasy a snižuje množství síranu v karagenanu, což zvyšuje počet 3,6-anhydrid-D-galaktózových jednotek schopných tvorby dvoušroubovice. Ionty zajistí silné zgelovatění karagenanu, takže se nerozpustí v horkém roztoku. Ostatní látky (soli, proteiny, bakterie) se rozpustí a následně dojde k jejich vyplavení. Poté se produkt promyje od alkálií, vysuší na vzduchu a pomele. Aby mohl být tento karagenan použitý v potravinářství, musí být přečištěn, bělen a důsledně zbavený veškerých bakterií [3.].

2.1.6 Využití karagenanu

Karagenan působí jako zahušťovadlo, želírující látka, emulgátor a stabilizátor. Je označován jako přírodní stabilizátor E 407, bez negativních účinků na lidský organismus. Používá se ke stabilizaci mléčných výrobků: v sýrech (stabilizuje vznikající emulzi), zmrzlínách, trvanlivé smetaně, jogurtech, pudinkových krémech nebo šlehačce ve spreji. Také se přidává do pekařských výrobků, kde zlepšuje těsto a zvyšuje jeho celkový objem. Uplatnění nachází rovněž ve smažených pokrmích, kde snižuje množství vstřebávaného oleje. Stabilizátor E 407 můžeme nalézt v zálivkách, želé dezertech, ovocných práškových nápojích, nealkoholických nápojích, polévkách, sirupech a nízkokalorických džemech. Omezeně je karagenan obsažen v dětské výživě. V neposlední řadě se s karagenanem můžeme setkat v kosmetických, farmaceutických výrobcích, v chemickém průmyslu pro stabilizaci suspenzí, při výrobě barev apod. [1.], [2.], [3.], [9.].

Další široké uplatnění má karagenan v masném průmyslu, jelikož se vyznačuje optimální reaktivitou s masovými proteiny. Ve výrobku vytváří spojení mezi masovou šťávou, přidanou vodou a masovými vlákny (konzervy). I při nízkém dávkování vytváří při výrobě masných výrobků pevný gel. Kromě stabilizace kvality masných výrobků slouží jako přípravek podstatně přispívající k hospodárnosti výroby a úsporám. Umožňuje výrobu masných výrobků s omezeným použitím fosfátů, případně bez fosfátů [16.].

Zatím není vyvinut univerzální nosič pro imobilizaci mikroorganismů, které slouží například pro označení tumorových tkání, nebo přímo jako léčiva na rakovinu vpravená do buněk lidského těla. Při vývoji optimální univerzální metody imobilizace se karagenan ukázal jako velice praktický nosič, který je schopen začlenit do své struktury více než 50 mikroorganismů ve formě gelu (například kyselinu aspartovou, L-alanin, L-tryptofan, široké spektrum enzymů apod.). Mikrobiální buňky jsou do karagenanu (nejčastěji kappa) začleňovány při teplotě 40 °C, tudíž tyto organické substance musí být stabilní a nedegradabilní při dané teplotě. Vytvořená směs se převede na gel, který je odolný vůči změnám pH v prostředí, nerozkládá se během enzymatických reakcí v organismu a póry jsou optimálně velké, aby enzymy a buňky mikroorganismů zůstaly v gelové matici, na rozdíl od nízkomolekulárních látek (které jsou jimi produkovány) a jsou schopny substrátem snadno projít. Z karagenových gelů tak vznikají nosiče s jejichž pomocí si účinné látky zachovají vysoký stupeň aktivity (40 – 60 hm. %) [17.].

2.1.7 Bezpečnost práce s karagenanem

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 304/2004 Sb. zařazuje karagenany do přídatných látek, do kategorie stabilizátory (látky, umožňující udržovat fyzikálně-chemické vlastnosti

potravin a zvyšující vazebnou kapacitu potravin včetně tvorby příčných vazeb mezi bílkovinami, jež umožňuje spojení jednotlivých složek potravin) a označuje se jako E 407. V potravinářském průmyslu je v malých množstvích pravděpodobně bezpečný. Vysoké dávky karagenanu však způsobovaly vředy na střevech a další poškození u pokusných zvířat (včetně poškození plodu) [18.]. Takzvaný nízkomolekulární karagenan (který vzniká působením kyseliny chlorovodíkové na karagenan) způsoboval rakovinu u pokusných zvířat, dle organizace IARC se jedná o zvířecí karcinogen. Vysokomolekulární karagenan, který se používá jako přídatná látka, sám o sobě nádory u pokusných zvířat nezpůsoboval, zvyšoval však pravděpodobně potenci jiných karcinogenů v trávicím traktu.

Vědecký výbor pro potraviny Evropské komise (SCF) přezkoumával bezpečnost tohoto zahušťovadla a stabilizátoru vzhledem k potenciálním zdravotním problémům při konzumaci degradovaného karagenanu (vývoj určitých typů rakovin gastrointestinálního traktu, zvýšení výskytu rakoviny prsu aj.) a ačkoliv tyto negativní účinky nebyly prokázány, došlo ke změně specifikací pro karagenan potravinářské jakosti. Nyní je doporučený denní příjem 0 – 5 mg/kg tělesné hmotnosti a podíl karagenanu s molekulovou hmotností pod 50 000 může být zastoupen maximálně v obsahu 5 hm. %. Tento limit zajišťuje, že množství přijímaného degradovaného karagenanu bude na co možná nejnižší. Již od roku 1998 platí, že by se karagenan neměl používat při výrobě počáteční kojenecké výživy a v potravinách pro speciální lékařské účely. Jeho použití do výrobků určených pro starší kojence zůstává schváleno [18.], [20.], [21.].

2.2 Densitometrie

Densitometrie je metoda založená na měření hustoty vzorků. Přístroj odpovídající této metodě se nazývá denzitometr. Hustota je fyzikální veličina, která udává, jakou hmotnost má určitý objem zkoumaného tělesa. Jedná se o nekumulativní makroskopickou veličinu, která závisí na počtu atomů či molekul a jejich hmotnosti, ale také, jak jsou poskládány a jaký zabírají objem, poskytuje tedy informace o tělesu. Při míchání směsi můžeme změnou hustoty pozorovat interakce molekul a vzájemné uspořádání. Hustota kapalin a plynů je velmi závislá na teplotě. Hustota (jinak označována jako měrná hmotnost) je definována jako podíl hmotnosti m na objemu tělesa V tzn.:

$$\rho = \frac{m}{V}$$

Densitometrie patří mezi nepřímé metody měření hustoty, jež jsou založeny na studiu vlastností či jevů, které závisí na hustotě měřeného systému. Densitometrie se dělí dle principu měření hustoty např. na bodovou/lineární optickou hustotu, dvourozměrné měření apod. [22.], [23.].

2.2.1 Princip měření

Používaný denzitometr DSA 5000 M od firmy Anton Paar (Rakousko) měří hustotu kapalin metodou oscilační U – trubice s přesností $0,000005 \text{ g/cm}^3$. Měření hustoty vždy vyžaduje přesné měření a kontrolu teploty zajištěné vestavěným termostatem, teplota se reguluje integrovaným platinovým senzorem s přesností $0,001 \text{ }^\circ\text{C}$. Typicky platí, že hustota klesá s rostoucí teplotou, jelikož jednotlivé molekuly vyžadují více prostoru v důsledku jejich tepelného pohybu. Vzorek se zavede do U – trubice, která je elektronicky excitována a kmitá na charakteristické frekvenci. Tyto charakteristické změny frekvence závisí na hustotě

vzorku. Prostřednictvím přesného určení charakteristické frekvence a příslušnou úpravou se stanoví hustota vzorku [24.], [25.].

2.2.2 Praktické použití

V medicíně se používá tzv. kostní denzitometr, který poskytuje údaje a obrázky at' už pro posouzení hustoty kostí, rizika zlomenin (osteoporóza), složení těla, jako jsou obsah vápníku či chybný pediatrický vývoj [26.]. Měření kombinace hustoty a rychlosti zvuku ve vzorku za identických podmínek na densitometru DSA 5000 M snižuje chyby při měření koncentrací binárních směsí. Dalšími aplikacemi je stanovení koncentrace ternárních směsí, měření hustoty explozivních látek, detergentů, surfaktantů, koloidních látek, barev, laků, emulzí a dalších anorganických chemikálií [24.]. Příkladem použití densitometrie je měření hustoty a ultrazvukové rychlosti roztoku hyaluronanu ve vodě, kdy se hustota lineárně zvyšuje s koncentrací a snižuje s teplotou, přičemž účinek molekulární hmotnosti hyaluronanu na měřené veličiny je zanedbatelný. Měření rychlosti ultrazvuku hyaluronanu umožnilo výpočet stlačitelnosti a její závislosti na koncentraci a teplotě. Přidáním chloridu sodného došlo k změnám pouze číselných hodnot hustoty a rychlosti ultrazvuku, ale charakter závislosti na teplotě a koncentraci se nezměnil [25.].

2.3 Ultrazvuková spektroskopie s vysokým rozlišením (HRUS)

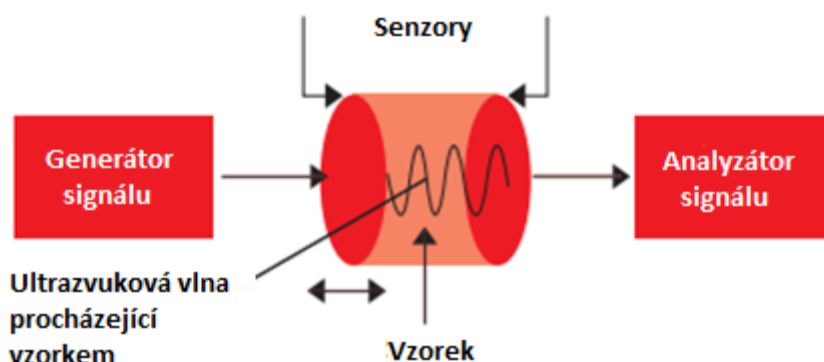
Ultrazvuková spektroskopie s vysokým rozlišením (HRUS – high resolution ultrasonic spectroscopy) je nedestructivní metoda vhodná pro analýzu materiálů, která používá ultrazvukové vlny. Systém je neinvazivní a je schopen vyhodnocovat stav, mikrostrukturu a mezimolekulové interakce vzorků. Většina spektroskopií je založena na použití elektromagnetických vln vycházejících ze světelného zdroje (viditelné záření, infračervené záření, spektroskopie nukleární magnetické resonance), tyto vlny jsou schopny se šířit pouze průhlednými vzorky a vyžadují speciální optické nastavení na každou vlnovou délku. Kdežto ultrazvuková spektroskopie využívá elektronicky syntetizované zvukové vlny bez šumu, tudíž může pokrývat široký rozsah frekvencí. Dále je schopna se šířit neprůhlednými vzorky, a to v podstatě přes většinu materiálů.

Ultrazvukem rozumíme mechanické kmity o frekvenci vyšší, než je horní frekvenční mez slyšitelnosti lidského ucha, tj. vyšší než 20 kHz. Ultrazvukové kmity se prostředím šíří formou vysokofrekvenčních akustických vln. Každé prostředí je z akustického hlediska charakterizováno několika parametry, nejdůležitějšími z nich jsou rychlost šíření ultrazvuku daným prostředím (tzv. fázová rychlost) a útlum. Útlum je závislý na kmitočtu ultrazvukových kmitů a hraje důležitou roli při volbě zobrazovací frekvence. Ultrazvuková spektroskopie je založena právě na naměření ultrazvukového útlumu a ultrazvukové rychlosti. Princip měření ultrazvukových vln je znázorněn na **Obrázku 6**.

Ultrazvukový útlum se určuje podle energetické ztráty ultrazvukové vlny, dochází zde ke kompresi a dekompresi, jež je tak malá, že nemá destruktivní dopad. Energetická ztráta je zapříčiněna absorpcí a rozptylem energie. Útlum vzorku může vyjadřovat například viskozitou vzorku. Takové měření umožňuje analyzovat kinetiku chemické reakce, mikrostrukturu materiálu (včetně velikosti částic), agregace, gelovatění, krystalizace a další procesy a charakteristiky.

Ultrazvuková rychlost je závislá na hustotě a elastické odezvě materiálu. Rychlost průchodu ultrazvukové vlny je ovlivněna molekulovým uspořádáním a mezimolekulárními

interakcemi vzorku, platí, že v pevném prostředí prochází snáze než v plynném prostředí. Díky měření rychlosti zvuku lze analyzovat přímo zmíněné interakce a také elasticitu a hustotu vzorku, které s molekulovým uspořádáním úzce souvisí [27.], [28.], [29.].



Obrázek 6: Schéma ultrazvukového spektrometru [28.].

V praxi je ultrazvuk široce rozšířený v oboru lékařství, kdy zvukové vlny prostupují měkkou tkání a pomocí moderních technologií jsou schopné vytvořit 3D obraz vyšetřované oblasti. Pro spoustu pevných materiálů se využívá schopnosti ultrazvukové spektroskopie promítnout nejen poškozenou mikrostrukturu uvnitř vzorku či nehomogenitu, ale i vnější povrchové nedokonalosti [30.]. Ultrazvuková spektroskopie s vysokým rozlišením (HRUS) se využívá například na detekci a analýzu chemických reakcí, termickou analýzu, sledování fázových přechodů, analýzu kvality kapalin, detekci a analýzu konformačních změn v polymerech, detekci interakcí antigenu s protilátkou. Dalším příkladem použití může být také měření koncentrace micel v koloidních roztocích huminových kyselin, kde obsah micel způsobuje pokles ultrazvukové rychlosti (pružnost elastického vlákna) [31.].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

Karagenan: Sigma Aldrich (Česká republika), CAS: 11114–20–8, šarže BCBK1080V.

Chlorid sodný: Lachner (Česká republika), čistota 99,5%.

3.2 Příprava zásobních roztoků

Příprava zásobního roztoku chloridu sodného

Zásobní roztok chloridu sodného o koncentraci 0,15 mol/l byl připraven navážením 4,38 gramů pevného chloridu sodného a následně byl analyticky převeden do 500 ml odměrné baňky ultra čistou deionizovanou vodou z přístroje PURELAB. Poté byl roztok dokonale promíchán a skladován za laboratorních podmínek.

Příprava zásobních roztoků karagenanu ve vodě

Zásobní roztoky byly připravovány přímým rozpouštěním pevného karagenanu v ultra čisté deionizované vodě z přístroje PURELAB. Takto připravené zásobní roztoky byly míchány na míchačce po dobu 24 hodin, aby se karagenan ve vodě dokonale rozpustil. Připraveny byly roztoky o požadované koncentraci 1 g/l (1. kalibrační řada) a 3 g/l (2. kalibrační řada) ve 100 ml ultra čisté deionizované vody.

Rovnice 1 a 2: Výpočet navážky karagenanu v gramech

$$m_1 = \frac{V_1 \cdot V_2}{m_2} = \frac{1000 \cdot 100}{1} = 0,1 \text{ g} \quad (1.)$$

$$m_1 = \frac{V_1 \cdot V_2}{m_2} = \frac{1000 \cdot 100}{3} = 0,3 \text{ g} \quad (2.)$$

kde m_1 – hmotnost navážky pevného karagenanu [g]

m_2 – množství karagenanu odpovídající koncentraci zásobního roztoku [g]

V_1 – objem odpovídající koncentraci zásobního roztoku [ml]

V_2 – objem rozpouštědla [ml]

Příprava zásobních roztoků karagenanu v chloridu sodném

Příprava zásobních roztoků karagenanu v chloridu sodném probíhala stejným způsobem jako příprava vodných roztoků karagenanu. Připraveny byly roztoky o koncentraci 1 g/l (1. kalibrační řada) a 3 g/l (2. kalibrační řada) karagenanu v chloridu sodném o objemu 100 ml. Pro měření časové stálosti byla část zásobního roztoku karagenanu v chloridu sodném o koncentraci 1 g/l a 3 g/l skladována za laboratorních podmínek (23 °C, 198,15 KPa, na světle).

3.3 Příprava vzorků

Příprava vzorků karagenanu ve vodě

První část vzorků používaná na měření byla připravována pipetováním stanoveného objemu (viz **Tabulka X1** v příloze) ze zásobního roztoku karagenanu. Následně byl vzorek doplněn do 10 ml ultra čistou deionizovanou vodou. Takto připravené roztoky byly míchány na míchačce, aby bylo dosaženo rovnoměrného zastoupení karagenanu v celém vzorku. Tímto způsobem byly připraveny první dvě kalibrační křivky, kdy první z nich nabývala hodnot o koncentracích 0,001 – 1 g/l a druhá 1,25 – 3 g/l. Stejným způsobem byly připraveny vzorky pro druhé měření.

Druhá část vodných roztoků se vzrůstající koncentrací tímto způsobem nemohla být připravována, jelikož část objemu roztoku ulpívala ve špičce pipety, což bylo zapříčiněno vzrůstající schopností tvořit hustý gel, což vedlo k nepřesné koncentraci karagenanu ve vzorku. Proto byla tato část vzorků připravována navážením stanoveného množství pevného karagenanu na analytických vahách (viz **Tabulka X2** v příloze), následně bylo rozpuštěno v 10 ml ultra čisté deionizované vodě a řádně promícháno po dobu 12 hodin. Tento postup byl zvolen pro kalibrační řadu 3 o koncentraci 3,5 – 6 g/l a poslední kalibrační řadu 4 v rozmezí 6,5 – 10 g/l. Hodnoty objemů a hmotností pro přípravu jednotlivých kalibračních řad jsou uvedeny v **Tabulce X2** (v příloze), včetně výsledných koncentrací. Stejně se postupovalo také při přípravě vzorků pro druhé měření, jehož hodnoty objemů, hmotností a koncentrace znázorňuje **Tabulka X2** (v příloze).

Příprava vzorků karagenanu v chloridu sodném

Příprava vzorků karagenanu v chloridu sodném probíhala analogicky jako v případě vodného roztoku karagenanu. První část vzorků používaná na měření byla připravována pipetováním stanoveného objemu (viz **Tabulka X1** v příloze) ze zásobního roztoku karagenanu v chloridu sodném. Poté byly vzorky doplněny do 10 ml zásobním roztokem chloridu sodného 0,15 M a promíchány na míchačce po dobu 24 hodin. Tímto způsobem byly připraveny první dvě kalibrační křivky, první z nich nabývala hodnot o koncentracích 0,001 – 1 g/l a druhá pak 1,25 – 3 g/l. Stejným způsobem byly připraveny vzorky pro druhé měření.

Pro kalibrační řadu 3 o koncentraci 3,5 – 6 g/l a poslední kalibrační řadu 4 v rozmezí 6,5 g/l až 10 g/l byly roztoky karagenanu v chloridu sodném připravovány navážením stanoveného množství (viz **Tabulka X3** v příloze) pevného karagenanu na analytických vahách. Následovalo rozpouštění karagenanu v 10 ml roztoku chloridu sodného. Připravené vzorky byly opět míchány na míchačce nejméně 12 hodin. Roztoky získaly světle béžový odstín, typický pro roztoky karagenanu o vysoké koncentraci v chloridu sodném. Stejným postupem byly připraveny vzorky pro druhé měření. Všechny hodnoty hmotnosti, objemu a výsledné koncentrace pro obě měření jsou uvedeny v **Tabulce X3** (v příloze).

3.4 Vlastní měření hustoty a ultrazvukové rychlosti densitometricky

Všechny uvedené vzorky byly proměřovány na denzitometru DSA 5000 M od firmy Anton Paar. Tento přístroj je schopen zaznamenávat hodnoty hustoty vzorku o dané koncentraci a teplotě s přesností na 0,000001 g/l, a dále je schopen současně měřit ultrazvukovou rychlost vzorku. Vyhodnocovány byly hodnoty hustoty a ultrazvukové rychlosti, a to vždy v rozmezí 20 – 50 °C s krokem 5 °C. Celkový teplotní sken vzorku

karagenanu například o koncentraci 0,1 g/l obsahoval 7 hodnot hustoty a ultrazvukové rychlosti při různé (vzrůstající či klesající) teplotě.

Před měřením vzorků byla v cele denzitometru nejdříve proměřena ultra čistá deionizovaná voda jako referenční prostředí. Následně byla cela profouknuta vzduchem pomocí pumpy přístroje a poté byl nadávkován vzduch změřen. Popřípadě byly tyto referenční hodnoty patřičně kalibrovány. Vlastní měření probíhalo nástřikem cca 1 ml vzorku do cely, čímž došlo k propláchnutí cely měřeným vzorkem, a následovala další dávka vzorku (množství odpovídající 2 – 3 ml). Bylo nezbytné, aby se při nástřiku vzorku do cely nevnesly bublinky plynu, jež by mohl roztok případně obsahovat. Pro kontrolu bublin v měřicí části cely je přístroj opatřen kamerou. Pokud by nedošlo k vytlačení plynu z cely novou dávkou vzorku, přístroj by automaticky nahlásil chybu měření. Po nastavení parametrů (rozmezí teplotního skenu, měřené veličiny) probíhalo měření po dobu 45 minut. Mezi jednotlivými vzorky jedné koncentrační řady se nechal přístroj chladit a čistil se pouze profukováním vzduchu. S novou koncentrační řadou byl přístroj vymyt, referenční hodnoty pro vodu byly zkontrolovány, případně byl přístroj znovu zkalibrován. Pro každou koncentrační řadu proběhlo několikrát také měření obráceného teplotního skenu, tedy od 50 °C do 20 °C, rovněž s krokem 5 °C. Měření časové stálosti karagenanu pro roztok karagenanu v chloridu sodném o koncentraci 1 g/l a 3 g/l proběhlo ještě v den přípravy roztoku. Další měření bylo uskutečněno o 60 dnů později.

3.5 Vlastní měření rychlosti zvuku ultrazvukem s vysokým rozlišením (HRUSem)

Vzorky karagenanu byly měřeny na přístroji HRUS, od firmy Ultrasonic Scientific, Irsko. Byla proměřována ultrazvuková rychlost karagenanu ve vodě o koncentraci 0,1 g/l, 0,5 g/l, 1 g/l a 5 g/l, následně pak v prostředí chloridu sodného. Přístroj je schopen měřit relativní ultrazvukovou rychlost, skládá se proto z měřicí cely 1, obsahující zkoumaný vzorek karagenanu a cely 2, obsahující referenční prostředí (vodu). Před zahájením měření bylo třeba obě cely promýt dostatečným množstvím ultračisté deionizované vody. Poté byl přístroj kalibrován tak, že do obou cel byla nadávkována odplyněná (převařená) ultračistá deionizovaná voda. Výsledná relativní ultrazvuková rychlost musela nabývat nulové hodnoty. Součástí přípravy na měření bylo také odplynění vzorků karagenanu pomocí centrifugy při 3000 ot/min po dobu 5 minut. Následně byl do cely 1. nadávkován jeden mililitr odplyněného vzorku karagenanu ve vodě a v druhé cele byla ultračistá deionizovaná voda. Stejným způsobem probíhalo měření pro karagenan v chloridu sodném, tedy srovnávacím prostředím je zde opět voda.

Měření probíhalo při sedmi frekvencích v rozsahu 2 744 – 17 178 kHz, kde ke každé frekvenci případně stanovené číslo píku (což je rozdíl frekvencí dvou sousedních píků podělen frekvencí měřeného píku). Čísla píků stanovené pro referenční prostředí jsou 22, 41, 65, 95, 99, 121 a 201. Nastavení prvního píku probíhá tak, že se číslo píku referenčního prostředí přiřadí k měřenému vzorku, čímž získáme jeho odpovídající frekvenci. Stejným způsobem se nastaví i 6 zbylých píků a k nim odpovídající frekvence. Pro získání správné hodnoty relativní ultrazvukové rychlosti platí, že číslo píku vzorku i referenčního prostředí musí být stejné.

Po nastavení přístroje a termostatu byla měřena relativní ultrazvuková rychlost v závislosti na teplotě po dobu 15 hodin. Výsledný teplotní sken má rozsah 25 – 70 °C s rychlostí 1 °C za 5 minut s krokem 0,01 °C. Výsledný záznam z přístroje obsahoval hodnoty

ultrazvukové rychlosti a zeslabení, ale protože při zpomalení byl trend nejasný a špatně interpretovatelný, byla vyhodnocována pouze data zesílení ultrazvukové rychlosti jedné frekvence pro vybrané koncentrace karagenanu ve vodě a v chloridu sodném.

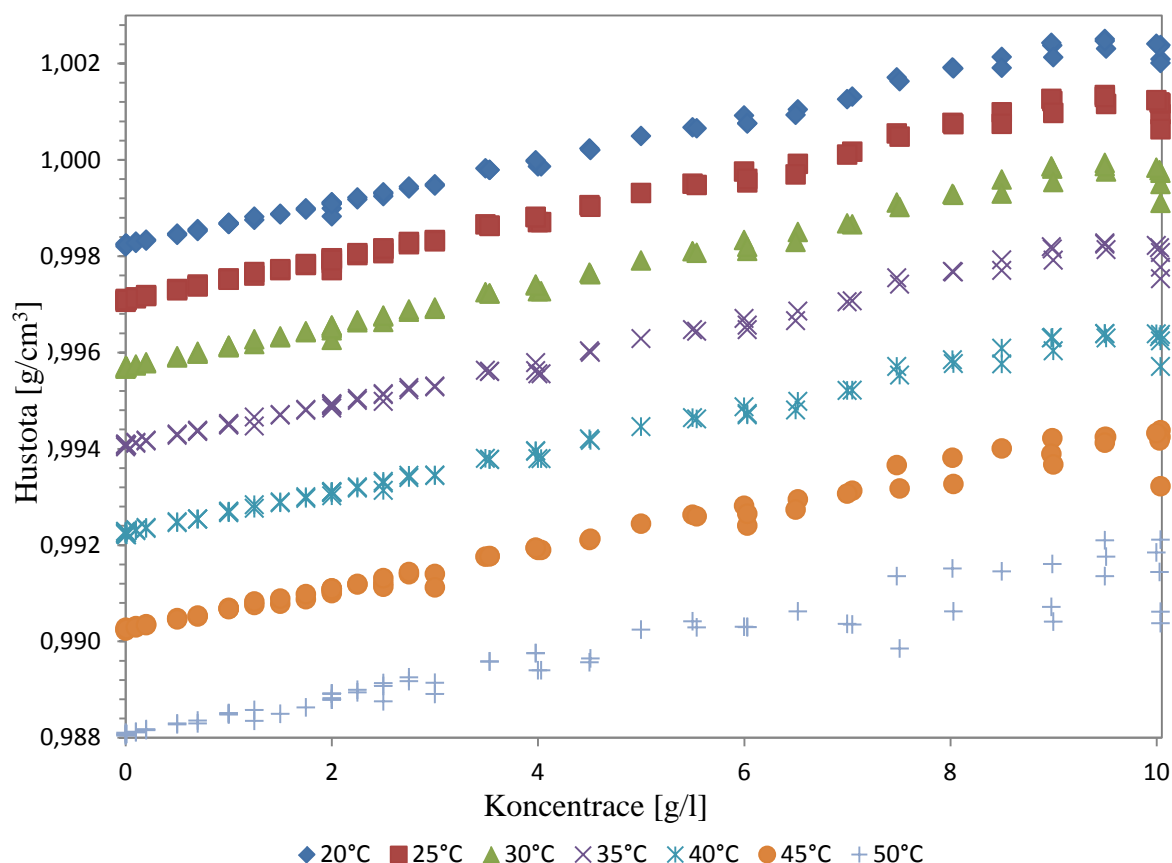
3.6 Výsledky a diskuse

3.6.1 Měření hustoty a ultrazvukové rychlosti karagenanu densitometrií

Pomocí hustoměru DSA 5000M byla automaticky měřena jak hustota, tak i rychlost zvuku vzorků karagenanu ve vodném prostředí a v prostředí chloridu sodného. Vzorek karagenanu nadávkovaný do skleněné U trubice se rozkmital na charakteristickou frekvenci, která je závislá na vlastnostech vzorku. Dle této frekvence je přístroj schopný velmi přesně spočítat hustotu a rychlost zvuku. Přesnost je zajištěna automatickou korekcí na viskozitu v celém prostoru měřicí cely pro nadávkovaný objem vzorku (3 ml). Vyhodnocující teplotní scan všech kalibračních řad je v rozsahu od 20 °C do 50 °C s krokem 5 °C. Pro vybrané koncentrace probíhalo měření daných veličin a vyhodnocení také opačně, tedy od 50 °C po 20 °C, především pro vzorky karagenanu ve vodě. Dále je vyhodnoceno stárí roztoku pro karagenan v chloridu sodném. Na závěr je porovnáváno chování karagenanu v závislosti na prostředí.

Karagenan ve vodě

Jak již bylo zmíněno v kapitole 3.3, každý vzorek karagenanu byl měřen nejméně dvakrát. Všechny výsledné hodnoty teplotního skenu hustoty a ultrazvukové rychlosti všech vzorků karagenanu ve vodě o koncentraci 0,001 – 10 g/l jsou zaznamenány graficky, průměrné hodnoty hustoty včetně směrodatných odchylek pro teplotu 20 °C jsou uvedeny v **Tabulce X4** a pro teplotu 50 °C v **Tabulce X5** (v příloze), včetně hodnot měřených při klesající teplotě v intervalu od 50 °C do 20 °C. Průměrné hodnoty pro ultrazvukovou rychlost včetně směrodatných odchylek znázorňuje **Tabulka X6** pro 20 °C a **Tabulka X7** pro 50 °C (rovněž v příloze). V neposlední řadě jsou graficky zpracována data pro měření ultra čisté deionizované vody.



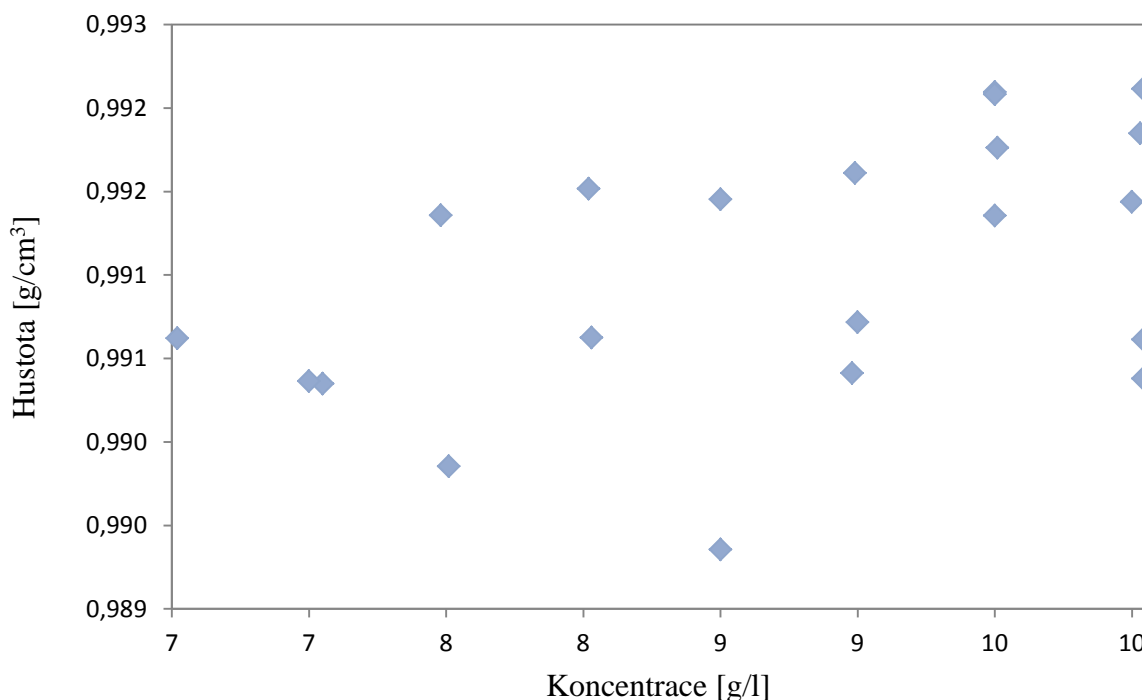
Graf 1: Znáznornění závislosti hustoty na celkové škále koncentrací od 0,001 g/l po 10 g/l vzorků karagenanu ve vodě na při teplotě 20 – 50 °C.

Naměřená data znázorněná v **Grafu 1** popisují závislost hustoty na koncentraci karagenanu ve vodě v teplotním rozmezí od 20 °C po 50 °C s krokem 5 °C. Z grafu je patrné, že hustota karagenanu roste lineárně se zvyšující se koncentrací. Pouze s koncentrací 10 g/l karagenanu ve vodě je hodnota hustoty nižší a lineární průběh nekopíruje. Platí tedy, že nejnižší možnou hustotu ($0,988072 \text{ g/cm}^3$) má vzorek s nejnižší koncentrací karagenanu 0,001 g/l a to při 50 °C, naopak nejvyšší hustotu ($1,002509 \text{ g/cm}^3$) nabývá vzorek o koncentraci 9,5 g/l při teplotě 20 °C.

Z detailnějšího zkoumání **Grafu 1** vyplývá, že rozestup mezi jednotlivými teplotními závislostmi není vždy stejný, nýbrž se plynule zvětšuje shora dolů. Pro teplotní rozmezí 20 °C a 25 °C je rozdíl naměřené hustoty při stejné koncentraci nejmenší, pro teploty 45 °C a 50 °C je rozdíl hustoty při stejné koncentraci největší. Lépe patrný je tento jev při měření ultrazvukové rychlosti v **Grafu 3**.

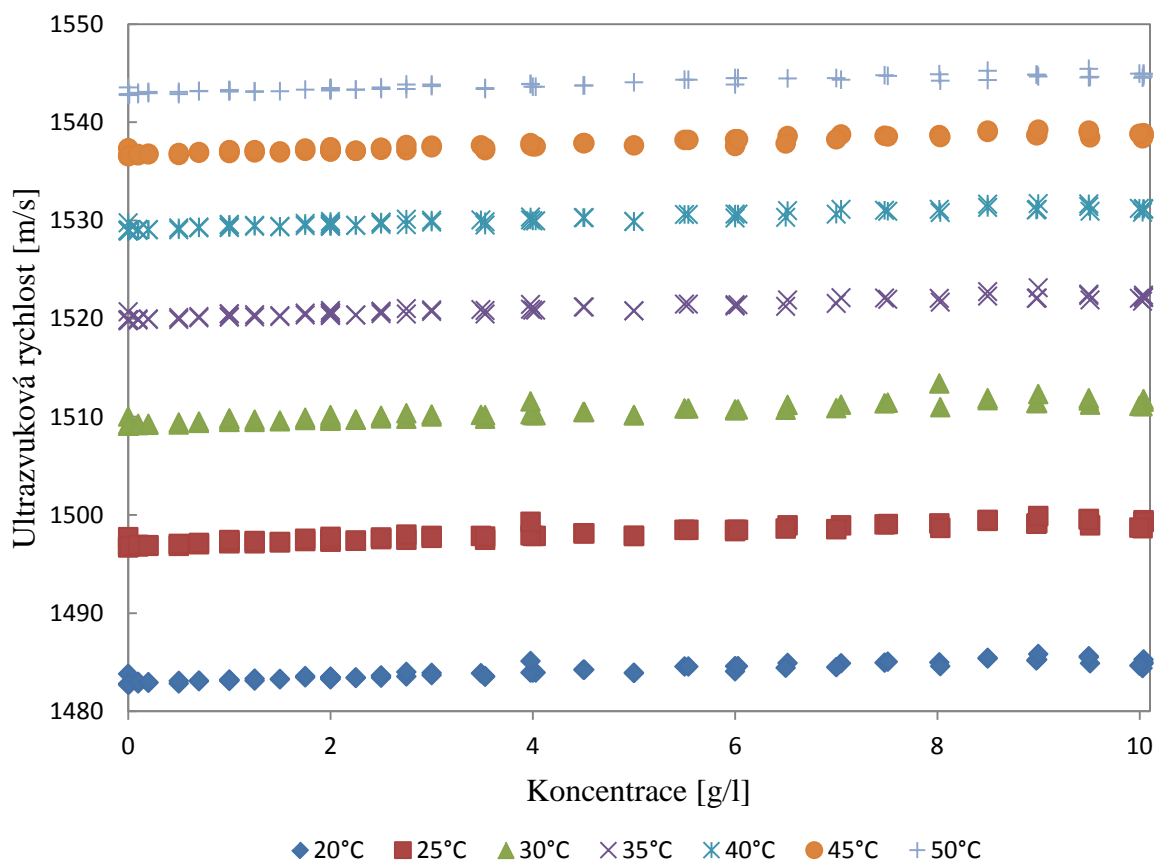
Kombinace vysoké teploty a vysoké koncentrace karagenanu vede k vyšším odchylkám ve výsledcích. Tento jev je způsoben jednak tím, že příprava koncentrovanějších vzorků (6 – 10 g/l) navažováním vede k větším nepřesnostem, dále pak jsou odchylky zapříčiněny pohybem molekul ve vzorku a jejich rozpínání. Toto tvrzení je ověřeno v následujícím **Grafu 2** s vyššími koncentracemi od 6,5 g/l po 10 g/l karagenanu ve vodě, jež tíhnou ke gelování. S vyšší teplotou dochází ke změnám v roztoku a gel se stává tekutější. Proto i při několikrát opakovaném změření hustoty vzorků stejné koncentrace při 50 °C nelze získat stejnou hodnotu, vždy dojde k odchylce (přibližně $0,0035 \text{ g/cm}^3$). Právě při kombinaci 50 °C

a vyšší koncentraci karagenanu jsou hodnoty hustoty nižší, nežli lineární průběh všech zbylých teplot.



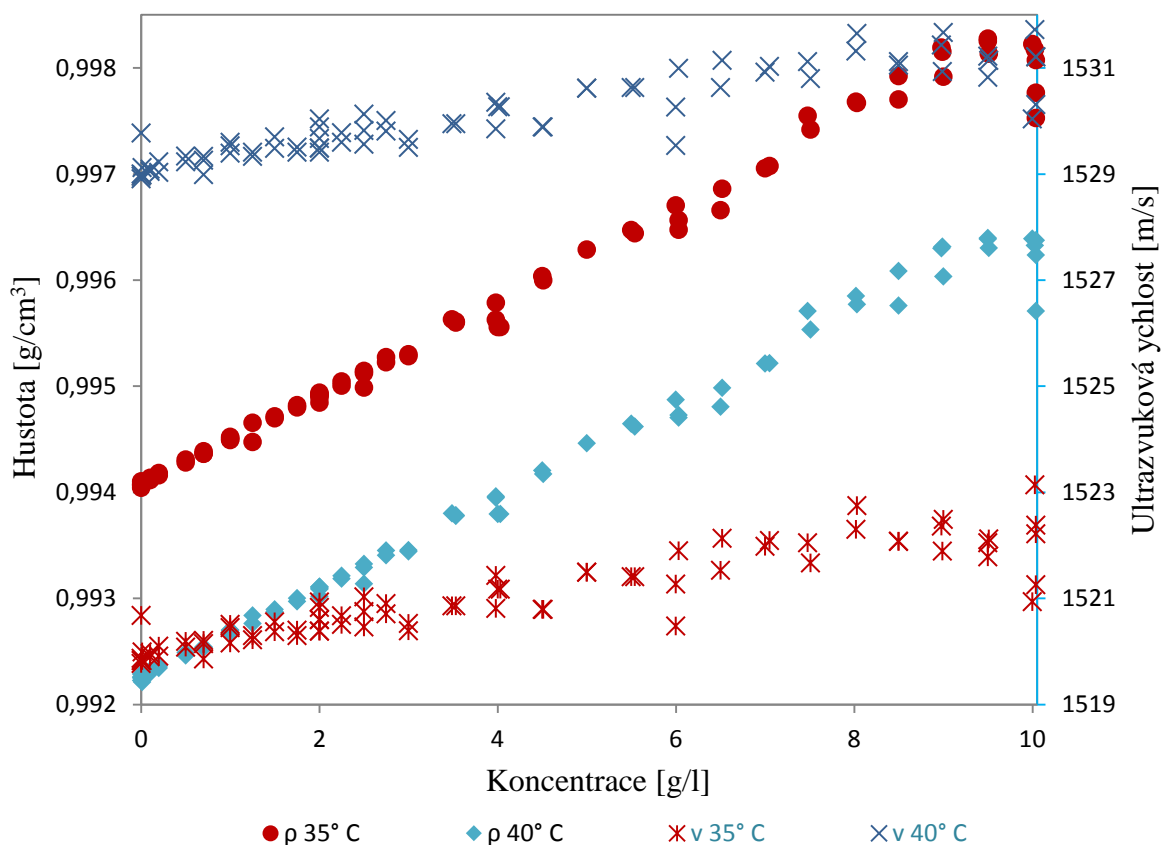
Graf 2: Závislost hustoty na koncentraci od 6,5 g/l po 10 g/l karagenanu ve vodě při teplotě 50 °C.

Již zmíněným měřením hustoty při klesající teplotě 50 – 20 °C (měřeno u vybraných vzorků nejméně pětkrát pro jednotlivé kalibrační řady) bylo experimentálně dokázáno, že v závislosti na teplotě nedochází k denaturaci karagenanu. Přechodem přes vysokou teplotu sice dochází ke změnám gelovitosti karagenanu, což vede k rozdílným výsledkům hustoty, avšak následným chladnutím a měřením hustoty při nižších teplotách (35 – 20 °C) se získají stejné výsledky hustoty jako před teplotní změnou (viz **Graf XI** v příloze).



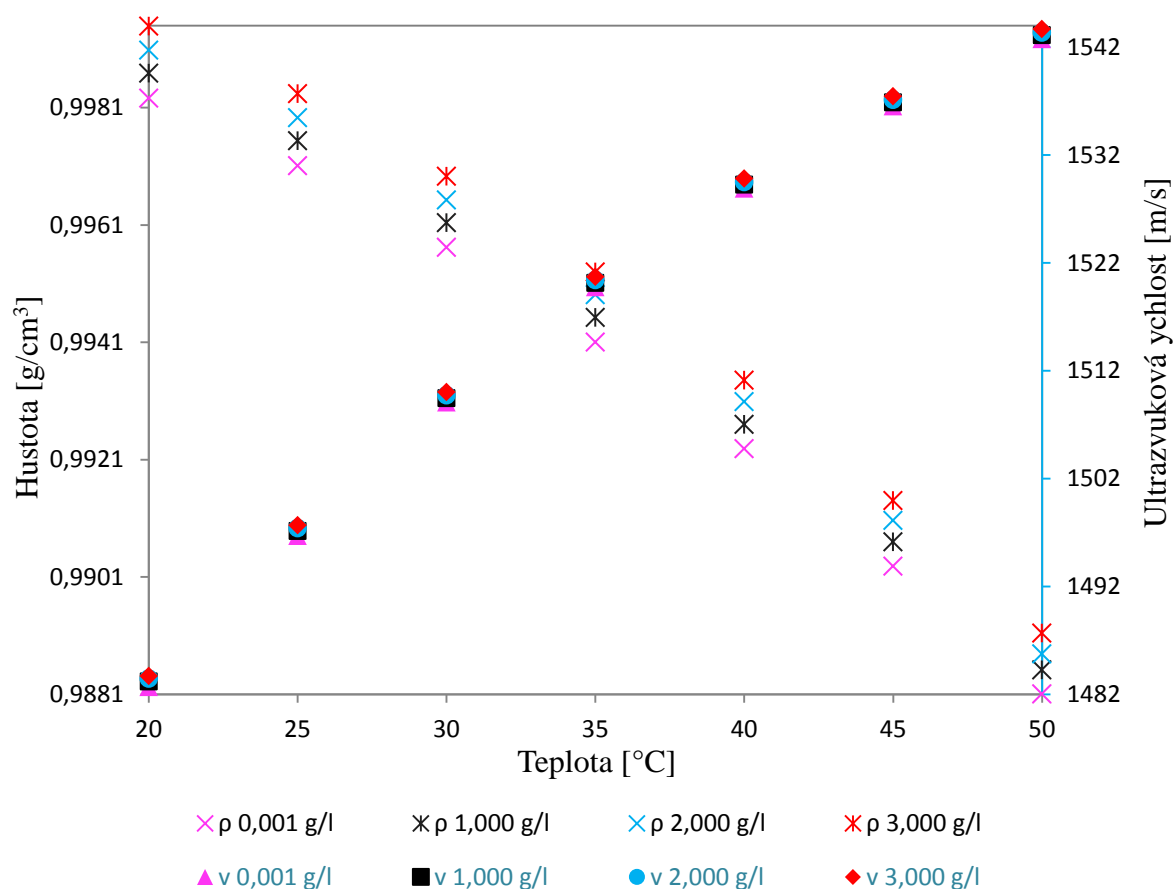
Graf 3: Znázornění závislosti ultrazvukové rychlosti na celkové škále koncentrací od 0,001 g/l po 10 g/l vzorků karagenanu ve vodě na při teplotě 20 – 50 °C.

Na hustoměru DSA 5000M paralelně s hustotou byla měřena ultrazvuková rychlost karagenanu pro každou koncentraci, naměřená data jsou zaznamenána v **Grafu 3**. Závislost rychlosti zvuku na koncentraci karagenanu rovněž roste lineárně (viz **Graf X2** v příloze), ale rozptyl naměřených hodnot ultrazvukové rychlosti je oproti hustotě větší, především pro vysoké koncentrace. Nejnižší hodnotu ultrazvukové rychlosti (1482,69 m/s) má karagenan ve vodě o koncentraci 0,001 g/l při 20 °C, dále rychlost plynule roste se zvyšující se teplotou a nejvyšší hodnoty (1544,96 m/s) dosahuje karagenan o koncentraci 10,04 g/l při 50 °C. Lze říci, že ultrazvuková rychlost má opačný trend, než tomu bylo při měření hustoty, která s rostoucí teplotou klesá. Rovněž zde platí, že vzdálenost mezi jednotlivými teplotními řadami není ekvidistantní, ale při ohřívání dochází ke zvětšování rozdílu ultrazvukové rychlosti při stejné koncentraci.



Graf 4: Závislost hustoty a ultrazvukové rychlosti na koncentraci karagenanu ve vodě od 0,001 g/l do 10 g/l při teplotě 35 °C a 40 °C.

Potřebné přiblížení trendu obou veličin (hustoty a ultrazvukové rychlosti) v závislosti na koncentraci znázorňuje **Graf 4** s teplotním rozmezím 35 °C a 40 °C. Z grafu je patrné, že obě závislosti jsou lineární. Se zvyšující se koncentrací hustota roste, u ultrazvukové rychlosti také dochází k růstu, ale při srovnání s průběhem pro hustotu není nárůst tak markantní a celkově jsou hodnoty více rozptýleny.

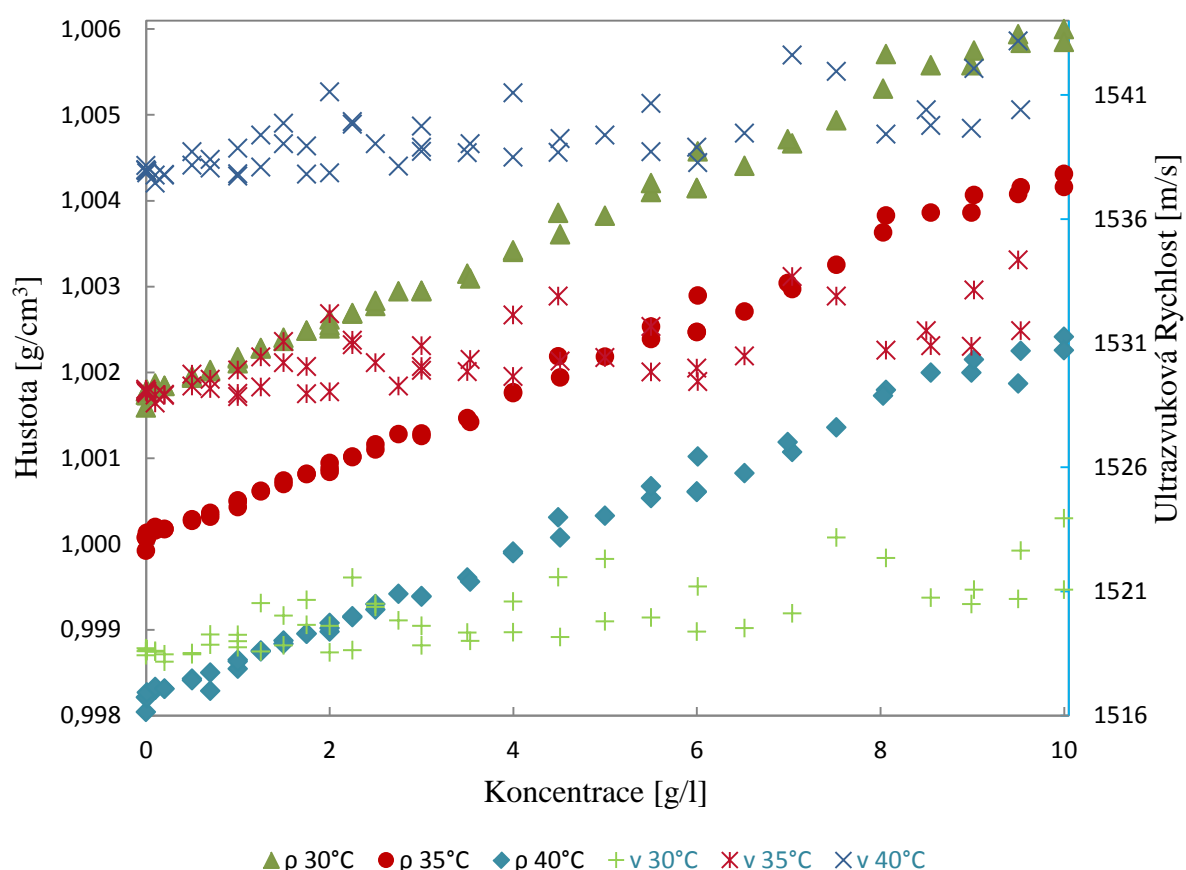


Graf 5: Závislost hustoty a ultrazvukové rychlosti na teplotě v intervalu 20 – 50 °C s krokem 5 °C karagenanu ve vodě o koncentraci 0,001 g/l, 1 g/l, 2 g/l a 3 g/l.

Graf 5 ukazuje, že hustota s rostoucí teplotou klesá, kdežto ultrazvuková rychlost roste. Předpokládá se, že ve vzorku karagenanu, jenž je vystaven ohřívání, se částice začnou pohybovat rychleji a rozkmitávat. Původní hustá síť molekul se rozvolní, dochází k rozestupování molekul od sebe a právě to zapříčiňuje zmíněný pokles hustoty. Zvuk se naopak šíří lépe díky větším mezerám mezi molekulami, kdežto prostup hustější masou molekul za nižších teplot je znesnadněn.

Karagenan v chloridu sodném

Měření karagenanu v chloridu sodném probíhalo za stejných podmínek jako při měření karagenanu ve vodě. Rovněž byl každý vzorek karagenanu v chloridu sodném měřen nejméně dvakrát. Výsledné hodnoty teplotního skenu hustoty a ultrazvukové rychlosti všech vzorků karagenanu v chloridu sodném o koncentraci 0,001 – 10 g/l jsou vyhodnocovány graficky, včetně hodnot měřených při klesající teplotě v intervalu 50 – 20 °C. Dále jsou v grafech uvedeny hodnoty hustoty i ultrazvukové rychlosti pro samotný chlorid sodný o koncentraci 0,15 mol/l.



Graf 6: Závislost hustoty a ultrazvukové rychlosti na koncentraci karagenanu v chloridu sodném od 0,001 g/l do 10 g/l při teplotě 30 °C, 35 °C a 40 °C.

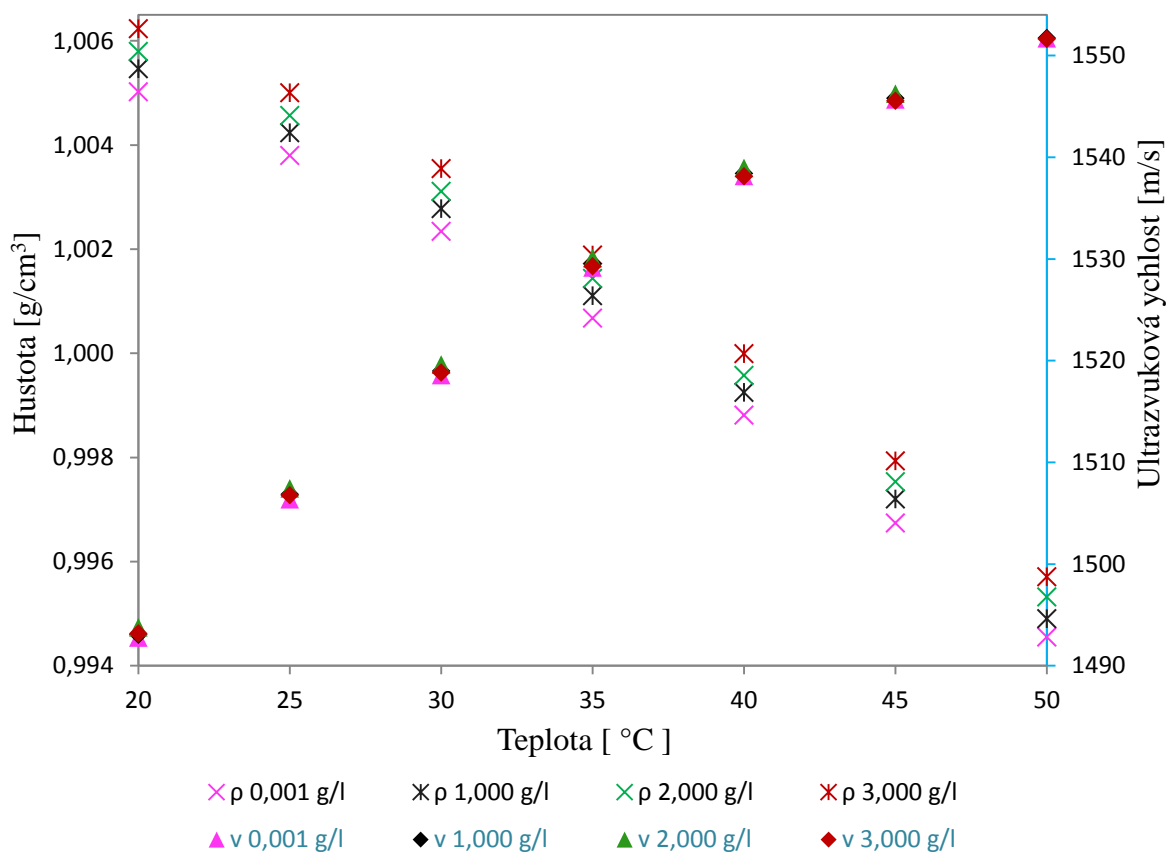
Karagenan v chloridu sodném vykazuje jen několik málo změn oproti vodnímu prostředí. Proto průběh závislosti hustoty i rychlosti zvuku na koncentraci je znázorněn v **Grafu 6** již detailněji – pouze pro tři teploty. Z grafu je patrné, že hustota karagenanu v chloridu sodném rovněž roste lineárně se zvyšující se koncentrací. Platí, že nejnížší možnou hustotu ($0,993843 \text{ g/cm}^3$) má vzorek s nejnížší koncentrací karagenanu $0,001 \text{ g/l}$ a to při 50 °C . Nejvyšší hustoty ($1,008810 \text{ g/cm}^3$) nabývá vzorek o koncentraci 10 g/l při teplotě 20 °C .

Jelikož hustota chloridu je větší než hustota vody, jsou i hodnoty naměřené ultrazvukové rychlosti vyšší. Avšak oproti čistému vodnímu prostředí, které svou hustotou navazuje na linearitu roztoků s karagenanem (viz **Graf 1**), hustota čistého prostředí chloridu sodného nenavazuje na linearitu karagenanu, ale je nižší. Lze tedy říci, že smícháním molekul karagenanu s molekulami chloridu sodného dojde vždy k nárůstu hustoty.

Paralelně měřená ultrazvuková rychlost, znázorněná v **Grafu 6** na vedlejší ose, také roste lineárně se zvyšující se koncentrací. Na rozdíl od vodního prostředí (**Graf 3**) jsou však hodnoty rychlosti zvuku rozptýleny v širším rozsahu u všech naměřených koncentrací, zatímco ve vodním prostředí rozptyl nastával především u vysokých koncentrací. Nejvyšší hodnota ultrazvukové rychlosti $1556,35 \text{ m/s}$ byla naměřena pro koncentraci 10 g/l karagenanu v chloridu sodném při teplotě 50 °C . Nejnížší hodnotu rychlosti zvuku $1492,76 \text{ m/s}$ má karagenan v chloridu sodném o koncentraci $0,001 \text{ g/l}$ při teplotě 20 °C .

Rovněž pro obě zkoumané veličiny platí, že jednotlivé teplotní řady pro karagenan v chloridu sodném nejsou ekvidistantní a rozestup mezi nimi se zvětšuje se zvyšující

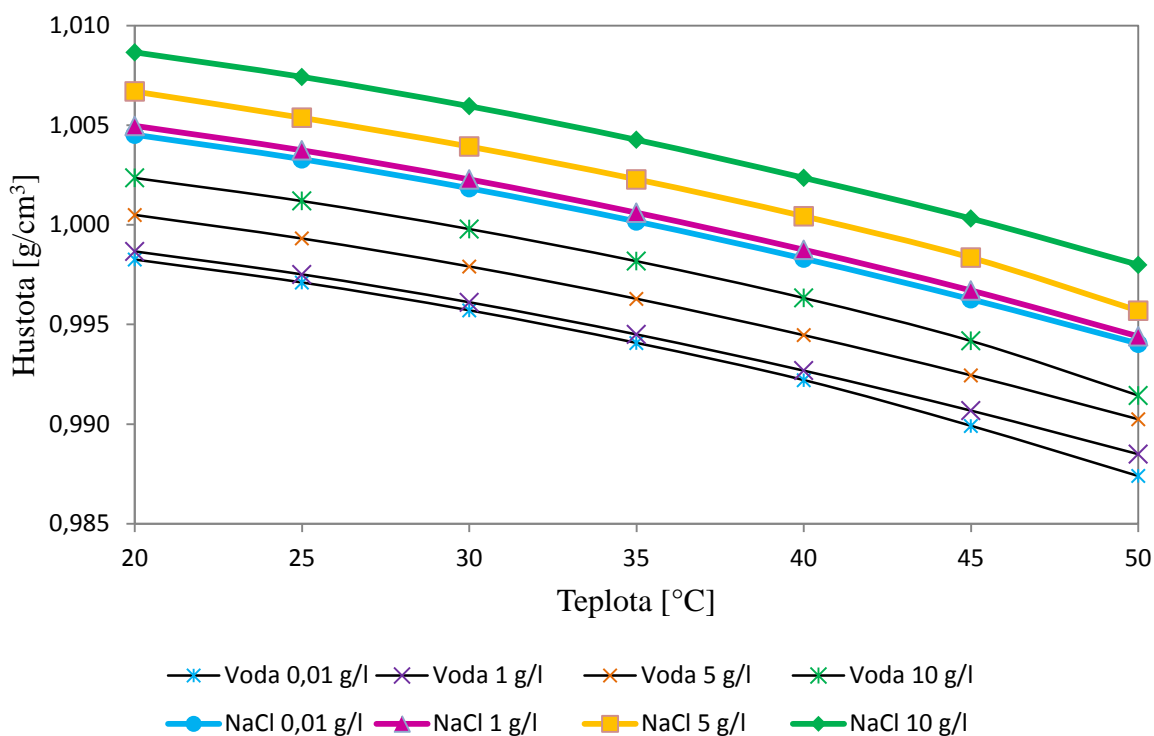
se teplotou. To znamená, že rozdíly mezi hustotou a ultrazvukovou rychlostí pro stejné koncentrace se při ohřívání zvětšují. Pro teplotní rozmezí 20 °C a 25 °C je rozdíl naměřené hustoty a rychlosti zvuku (pro stejnou koncentraci) nejmenší. Pro teploty 45 °C a 50 °C je rozdíl hustoty a rychlosti zvuku (pro stejnou koncentraci) největší. Dobře viditelný je tento jev v **Grafu X3** (v příloze).



Graf 7: Závislost hustoty a ultrazvukové rychlosti na teplotě v intervalu 20 – 50 °C s krokem 5 °C karagenanu v chloridu sodném o koncentraci 0,001 g/l, 1 g/l, 2 g/l a 3 g/l.

Z **Grafu 7** je patrné, že hustota karagenanu v chloridu sodném klesá lineárně se zvyšující se teplotou. Na rozdíl od toho ultrazvuková rychlost při zvyšování teploty vzorku karagenanu v chloridu sodném roste.

Porovnání hustoty karagenanu ve vodě s hustotou karagenanu v chloridu sodném



Graf 8: Závislost hustoty karagenanu v chloridu sodném a ve vodě o koncentraci 0,01 g/l, 1 g/l, 5 g/l a 10 g/l na teplotě v intervalu 20 °C – 50 °C s krokem 5 °C.

Při porovnávání prostředí již bylo zmíněno, že karagenan v chloridu sodném vykazuje vždy vyšší hodnoty hustoty než karagenan ve vodě pro danou koncentraci. Tuto skutečnost potvrzuje **Graf 8**. Rozdíl nejnížší hustoty karagenanu v chloridu sodném oproti nejnížší hustotě karagenanu ve vodě je $0,005771 \text{ g/cm}^3$. Rozdíl mezi nejvyšší hustotou těchto dvou prostředí činí $0,006301 \text{ g/cm}^3$. Rozložení hustoty vzhledem ke koncentraci znázorňuje **Graf X4**, ze kterého lze přirovnat nejnížší možné hodnoty hustoty pro karagenan v chloridu sodném při 50 °C zhruba k hodnotám hustoty pro karagenan ve vodě při 35 °C. Protože průběh ultrazvukové rychlosti karagenanu pro obě prostředí zůstává beze změn, tak i hodnoty rychlosti zvuku se zvýší v prostředí chloridu sodného. Rozdíl mezi nejnížší ultrazvukovou rychlostí karagenanu v chloridu sodném oproti karagenanu ve vodě je 10,07 m/s. Rozdíl mezi nejvyšší ultrazvukovou rychlostí obou prostředí je 11,39 m/s.

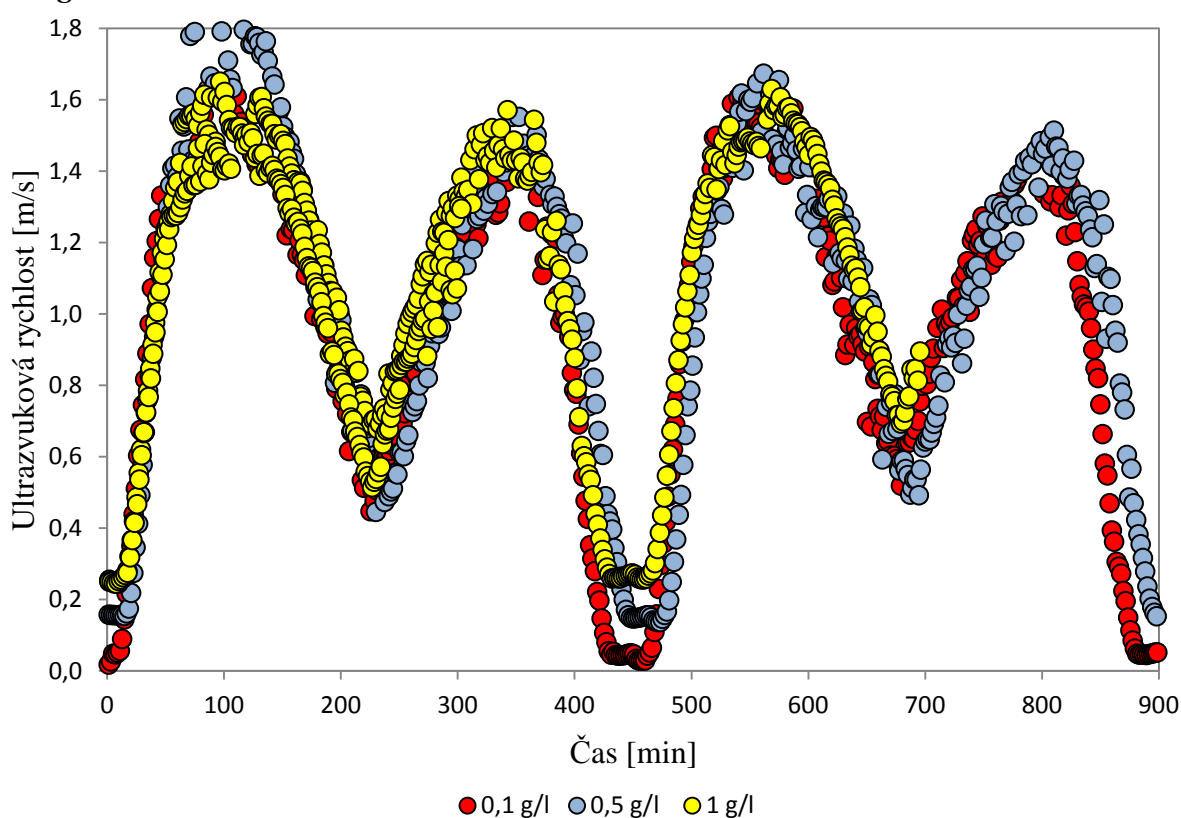
Stáří karagenanu v chloridu sodném

Experimentálně bylo stanoveno, že karagenan nepodléhá stárnutí, rozkladu ani jiným degradabilním změnám způsobené dlouhodobým skladováním. Výsledky měření jsou uvedeny v **Grafu X5** (v příloze), z něhož lze jasně říci, že hustota vzorku se nijak nezměnila, tudíž je karagenan v chloridu sodném časově stálý. Již bylo zmíněno, že karagenan se ve vodě chová velmi podobně jako karagenan v chloridu sodném. Prakticky jediný rozdíl je zde pouze vyšší hustota. Lze tedy říci, že vzorek karagenanu ve vodě bude taktéž časově stálý a naměřená hustota bude vykazovat hodnoty s minimálními odchylkami, ačkoliv to nebylo experimentálně dokázáno.

3.6.2 Měření rychlosti zvuku ultrazvukem s vysokým rozlišením (HRUSem)

Relativní rychlost jest rozdíl mezi rychlostí zvuku vzorku a rychlostí zvuku srovnávací cely. Všechny uvedené grafy vykreslují výslednou závislost (pro jednu koncentraci) pouze páté měřené frekvence z celkem sedmi naměřených, protože z měření se zjistilo, že výsledek měření nezáleží na frekvenci, při níž měření probíhá. Závislost všech sedmi frekvencí je stejná, proto není nutné je zde uvádět všechny (viz **Graf X6** v příloze). Ačkoliv měření jedné koncentrace probíhalo nejméně dvakrát, interpretována jsou data pouze pro jediný vzorek. Jelikož se výstupní hodnoty ultrazvukové rychlosti pro danou frekvenci liší v časových a teplotních hodnotách (protože přístroj není schopen každý vzorek ohřívat a ochlazovat identicky) není možné jednotlivá měření zprůměrovat. Druhé měření pak slouží pro kontrolu správnosti výsledků. Stanovená délka měření 900 minut zahrnuje dva cykly teplotního skenu, přičemž jeden cyklus se skládá z ohřevu z 25 °C na 70 °C a ochlazení zpět na 25 °C.

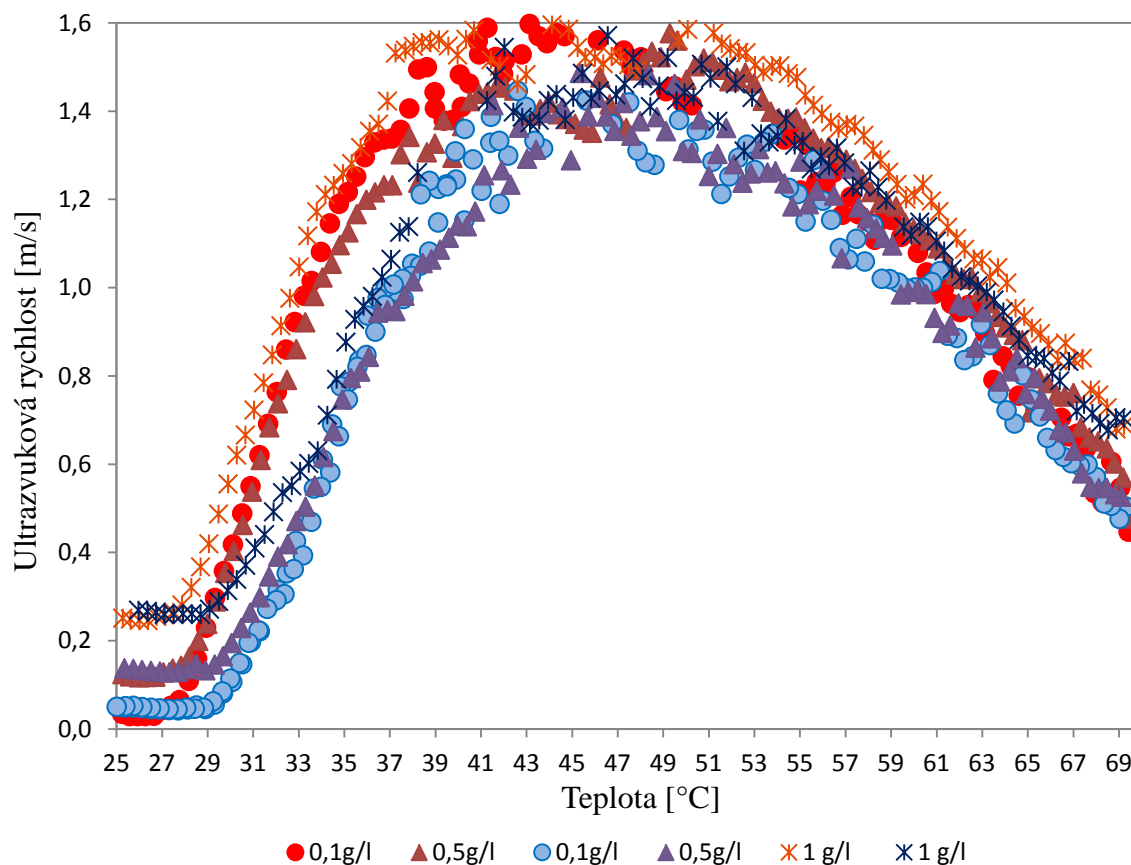
Karagenan ve vodě



Graf 9: Znárodnění závislosti ultrazvukové rychlosti roztoků karagenanu ve vodě o koncentraci 0,1 g/l, 0,5 g/l a 1 g/l na čase při dvou po sobě jdoucích cyklech teplotního skenu. Ukázka měření při frekvenci 12,20 MHz.

Hodnoty uvedené v **Grafu 9** popisují závislost ultrazvukové vlny karagenanu rozpouštěného ve vodě v závislosti na čase pro dva cykly. Jeden cyklus zahrnuje ohřívání od 25 °C po 70 °C v délce zhruba 220 minut a ochlazování 70 – 25 °C, které probíhá v časovém rozmezí 220 – 450 minut. Z grafu vyplývá, že druhý cyklus měření začíná při 450 minutách a zároveň si jsou oba cykly zrcadlově podobné, což platí pro všechny koncentrace. Lze usoudit, že v závislosti ultrazvukové rychlosti na čase ani po prodělání teplotní změny nedojde k narušení průběhu ohřívání či ochlazování. Jelikož je ultrazvuk

s vysokým rozlišením (HRUS) citlivější než densitometr, lze tvrzení o teplotní stálosti karagenanu v kapitole 3.6.1 považovat za správné. Na rozdíl však od předchozí metody měření (**Graf 2**) není v celém rozsahu teplot dodržena lineární závislost ultrazvukové rychlosti na koncentraci. V začátku měření se situace vyvíjí dle očekávání, tudíž čím větší koncentrace, tím větší rychlost zvuku. Následným zahříváním na vysokou teplotu a poté ochlazováním se však rozdíl mezi hodnotami stává nepatrný a k zmíněné lineární závislosti dochází znovu až při 25 °C, což odpovídá 450 minutám.



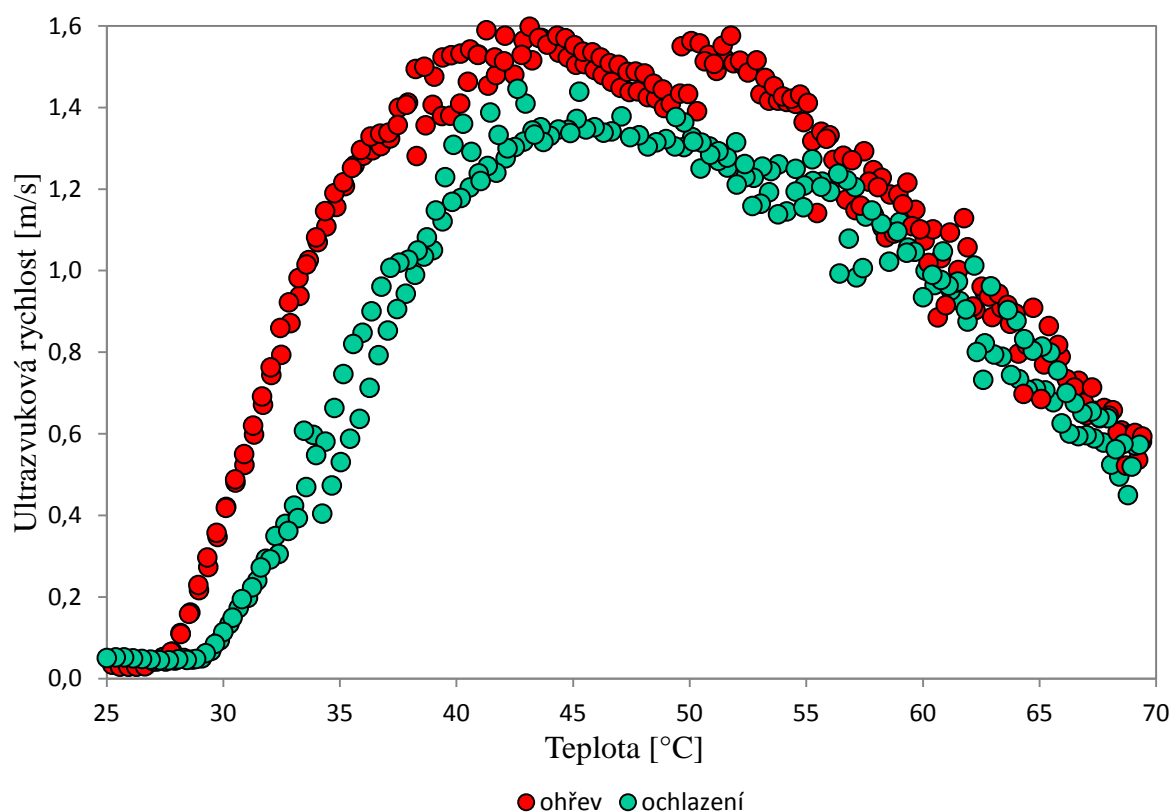
Graf 10: Znáznornění závislosti ultrazvukové rychlosti na teplotě v intervalu 25 – 70 °C pro karagenan ve vodě o koncentraci 0,1 g/l, 0,5 g/l a 1 g/l. Ukázka měření při frekvenci 12,20 MHz.

Teplotní průběh ultrazvukové rychlosti karagenanu ve vodě znázorňuje **Graf 10**. Jak bylo již nastíněno, pro danou závislost není třeba uvádět výsledky ze všech měřených frekvencí, protože si vzájemně odpovídají, z toho důvodu je znázorněna pouze ukázka měření při frekvenci 12,20 MHz. Pro větší přehlednost jsou v **Grafu 11** použity hodnoty pouze jednoho cyklu měření pro jeden vzorek o vybrané koncentraci, kde ochlazení je naznačeno modře a ohřívání červeně. Ačkoliv jsou rozdíly mezi koncentrací vzorků karagenanu ve vodě malé, lze si povšimnout, že ultrazvuková rychlost u ochlazování nabývá vždy nižších hodnot nežli ultrazvuková rychlost u ohřívání příslušné koncentrace. Maximální a minimální hodnoty ultrazvukové rychlosti závisí na koncentraci karagenanu ve vodě, platí však, že trend zůstává stejný, nezávisle na tom, zda se jedná o první nebo druhé ohřívání, respektive ochlazování.

Při ohřívání pozorujeme, že do 27 °C je hodnota ultrazvukové rychlosti konstantní a počáteční hodnota je v závislosti na koncentraci (0 – 0,3 m/s). Poté s rostoucí teplotou

ultrazvuková rychlost roste. V následujícím teplotním rozmezí od 38 – 52 °C dochází k hysterezi, hodnota ultrazvukové rychlosti je nestálá, v rozmezí 42 – 52 °C dochází k poklesu a následnému opětovnému růstu (maximální hodnoty, jenž jsou v rozmezí 1,4 m/s – 1,6 m/s), takže celkový trend ultrazvukové rychlosti se jeví jako schodek (viz **Graf 11**). S dalším ohříváním až na teplotu 70 °C se hodnota ultrazvukové rychlosti zmenšuje až k hodnotám 1,4 – 1,7 m/s. Nikdy však hodnota neklesne na počáteční minimum.

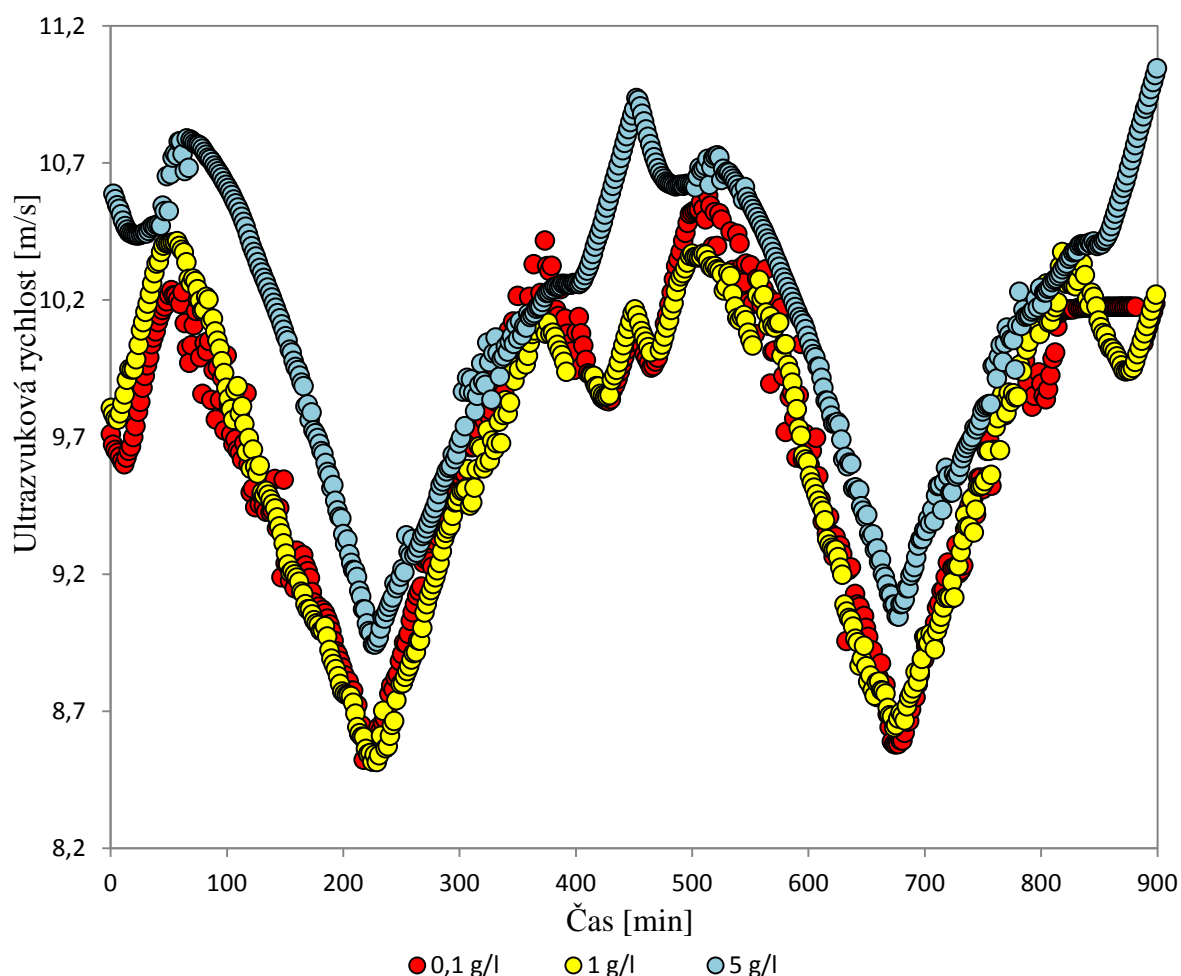
Při pozorování trendu ochlazování je viditelné, že při 70 °C ultrazvuková rychlost nabývá stejné hodnoty jako u ohřívání. S klesající teplotou (od 70 °C do 52 °C) dochází k zvyšování ultrazvukové rychlosti, ovšem v nižších hodnotách než u ohřevu (nekopíruje trend ohřívání, nýbrž je níže). Teplotní rozmezí 52 – 38 °C nenaznačuje tvorbu schodku, ovšem také dochází k silné hysterezi s maximální hodnotou rychlosti zvuku v intervalu 1,2 – 1,4 m/s. Následně ultrazvuková rychlost klesá od 38 °C do 29 °C. Zde je zřetelně vidět, že hodnoty rychlosti zvuku pro ochlazení jsou podstatně nižší (viz **Graf 11**), než hodnoty rychlosti zvuku pro ohřívání. Posledního rozdílu mezi ohřevem a ochlazením je možné si povšimnout na konci ochlazování, kdy se hodnota ultrazvukové rychlosti udržuje konstantní již od 29 °C, tedy o 2 °C dříve.



Graf 11: Znáznornění závislosti ultrazvukové rychlosti na teplotě při ohřívání a následném ochlazování 1 g/l karagenanu ve vodě v intervalu 25 – 70 °C. Ukázka měření při frekvenci 12 199 kHz.

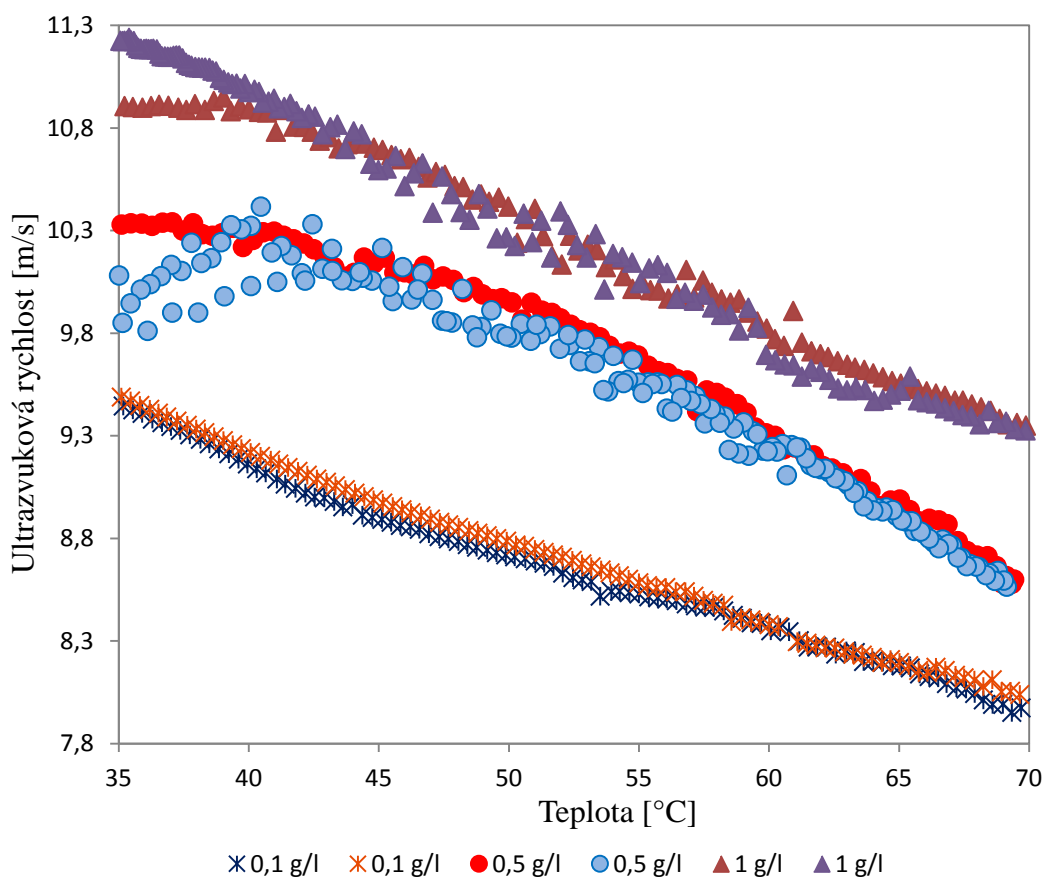
Popsané rozdíly zobrazuje **Graf 11**, na kterém je znázorněna závislost mezi prvním ohřevem (červeně) a prvním ochlazením (modře) jednoho cyklu měření karagenanu ve vodě o koncentraci 1 g/l.

Karagenan v chloridu sodném



Graf 12: Znáznornění závislosti ultrazvukové rychlosti roztoku karagenanu v chloridu sodném o koncentraci 0,1 g/l, 0,5 g/l a 1 g/l na čase při dvou po sobě jdoucích cyklech teplotního skenu. Ukázka měření při frekvenci 12,27 MHz.

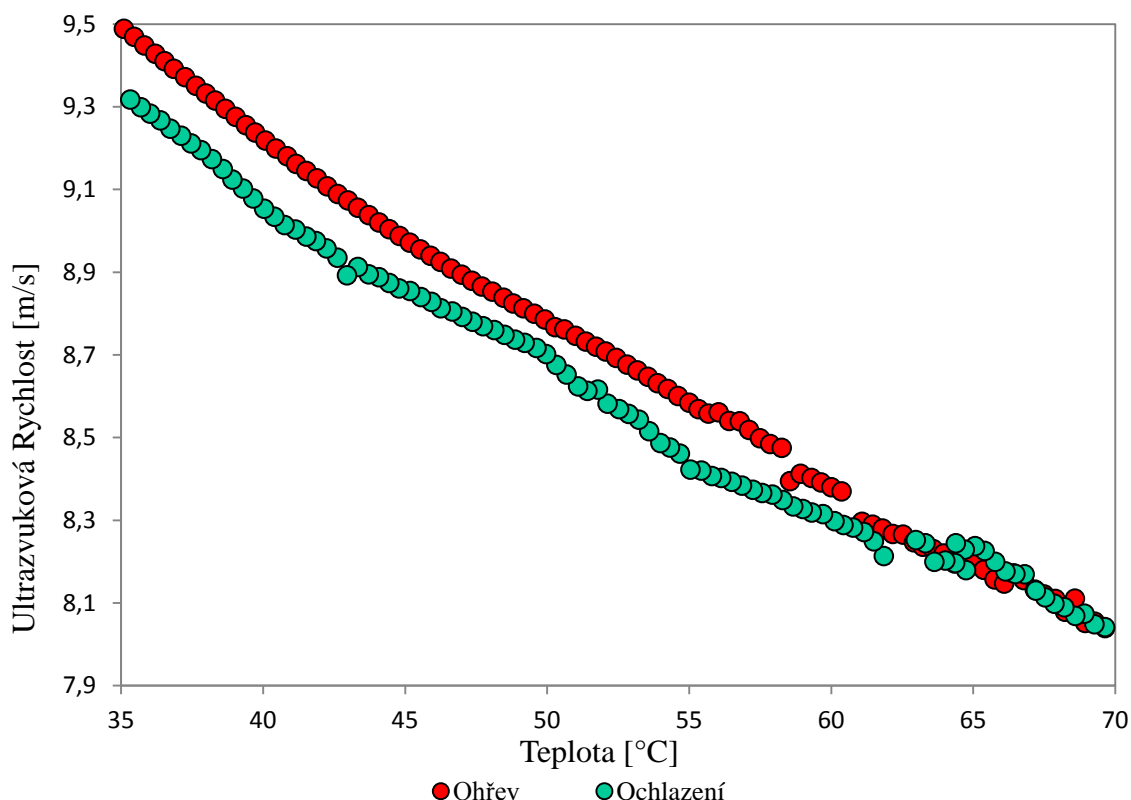
Závislost ultrazvukové vlny karagenanu rozpouštěného v chloridu sodném na čase je zobrazena v **Grafu 12**. Data jsou uvedena pro koncentrace 0,1 g/l, 1 g/l a 5 g/l. Celkový teplotní sken zahrnuje dva cykly (celkem 2x ohřev i ochlazení), které jsou rovněž zrcadlově podobné. Ohřev z druhého cyklu, který začíná od 450 minuty, se však na začátku měření pohybuje ve vyšších hodnotách ultrazvukové rychlosti, což je názorněji naznačeno v **Grafu X7** v příloze (ohřev červeně, ochlazení modře). Rozestupy ultrazvukové rychlosti mezi vzorky karagenanu o koncentraci 1 g/l a 5 g/l potvrzují, že se rostoucí koncentrací roste hodnota rychlosti zvuku. Oproti karagenanu ve vodě je hodnota ultrazvukové rychlosti karagenanu v chloridu sodném až 8x vyšší.



Graf 13: Znázornění závislosti ultrazvukové rychlosti na teplotě v intervalu 35 – 70 °C pro karagenan v chloridu sodném o koncentraci 0,1 g/l, 0,5 g/l a 1 g/l, měřeno při frekvenci 12,27 MHz.

Oba cykly, zahrnující 2x ohřívání (vyznačeno červenou barvou) a 2x ochlazování (vyznačeno modrou barvou) pro danou koncentraci mají tendenci vytvářet stejný lineární průběh, což je znázorněno v **Grafu 13**. Nicméně celkový průběh závislosti rychlosti zvuku na teplotě je značně ovlivněn hysterezí, proto při nízkých teplotách dochází k rozptýlení hodnot ultrazvukové rychlosti. Od 35 °C dochází k sjednocení trendu a závislost rychlosti zvuku na teplotě se stává lineární, proto je **Graf 13** přiblížen na tuto oblast teplot. Nejméně podléhá hysterezi vzorek 0,1 g/l karagenanu v chloridu sodném, kde jsou hodnoty rychlosti zvuku nejnižší a k jejich rozptylu dochází minimálně (viz **Graf 14**).

Ze závislosti rychlosti zvuku na koncentraci (**Graf 13**) je patrné, že ultrazvuková rychlost roste s rostoucí koncentrací. Při porovnání prostředí je zřejmé, že trend karagenanu v chloridu sodném je takřka opačný. Navíc zde nedochází k nápadným rozdílům mezi ohříváním a ochlazováním (**Graf 14**). S rostoucí teplotou ultrazvuková rychlost klesá, minimální hodnoty připadnou na 70 °C. Při ochlazování rychlost zvuku roste, maximální hodnoty se pohybují v oblasti 35 – 25 °C dle koncentrace karagenanu v chloridu sodném.



Graf 14: Znázornění závislosti ultrazvukové rychlosti na teplotě při ohřívání a následném ochlazování 0,1 g/l karagenanu v chloridu sodném v intervalu 35 – 70 °C, měřeno při frekvenci 12 273 kHz.

Zmiňovaný lineární trend jednoho cyklu (ohřívání a ochlazení) pro koncentraci 0,1 g/l je znázorněn v **Grafu 14**. Rozdíly mezi ohříváním (červeně) a ochlazováním (modře) jsou nepatrné. Ochlazování nabývá, po většinu času měření, menších hodnot ultrazvukové rychlosti (průměrně o 0,5 m/s).

3.6.3 Porovnání metod

Na denzitometri byla ultrazvuková rychlost udávána v relativní rychlosti, zatímco metodou ultrazvukové spektroskopie s vysokým rozlišením byla proměřena ultrazvuková rychlost udávána v diferenční hodnotě. To znamená, že změřené hodnoty udávají rozdíl mezi ultrazvukovou rychlostí vzorku v cele 1 a srovnávacího prostředí (ultra čisté deionizované vody) v cele 2. Referenční hodnota ultrazvukové rychlosti pro vodu při 25 °C je 1 497 m/s, pro získání hodnot ultrazvukové rychlosti vzorků karagenanu je potřeba přičíst změřenou relativní rychlost zvuku jednotlivých vzorků. Takto získaná hodnota ultrazvukové rychlosti karagenanu je pouze přibližná, pro přesné stanovení by bylo potřeba na výpočet použít diferenční rychlost zvuku srovnávacího prostředí za stejných teplot, při kterých probíhalo měření (25 – 70 °C). V této práci se proto rozdíly výsledků nediskutují, při porovnávání obou metod se klade důraz především na změny vlastností karagenanu v závislosti na teplotě a koncentraci. Pouze pro představu jsou v **Tabulce X8** a **Tabulce X9** (v příloze) porovnány výsledky ultrazvukové rychlosti při 25 °C pro obě metody včetně směrodatných odchylek, jejíž průměrná hodnota činí 0,194221 m/s.

4 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo seznámit se s densitometrií, ultrazvukovou spektroskopií a s jejich využitím v chemii. Byla navržena vhodná metodika k charakterizaci vlastností roztoků karagenanu v širokém spektru koncentrací a teplot. Teoretická část především poskytuje informace o karagenanu a jeho vlastnostech, dále pojednává o použitých metodách k měření. V experimentální části práce byla denzitometricky měřena hustota a ultrazvuková rychlost karagenanu. Dále byla měřena diferenční ultrazvuková rychlost karagenanu metodou ultrazvukové spektroskopie s vysokým rozlišením (HRUS). Tyto vlastnosti byly sledovány ve vodném prostředí a v prostředí chloridu sodného.

Měření hustoty a ultrazvukové rychlosti denzitometricky probíhalo v rozmezí teplot od 25 °C po 50 °C. Teplotní sken karagenanu byl měřen také opačně, tedy při ochlazování. Proměřením čtyř koncentračních řad bylo zjištěno, že obě veličiny jsou na koncentraci lineárně závislé. Hustota karagenanu ve vodě s rostoucí koncentrací roste a se zvyšující se teplotou naopak klesá. Ovšem zvýšená gelovitost vysoce koncentrovaných roztoků karagenanu ve vodě vykazovala větší odchylky od linearitu kvůli rozpínání, hysterezi a pohybu molekul. Nejvíce byly tyto jevy promítnuty při měření vysokých koncentrací roztoků karagenanu při 50 °C, kdy je změřená hustota nižší, než lineární průběh hustoty naměřené za zbylých teplot. Tento děj nastával také u koncentrace 10 g/l, která je tak vysoká (a tíhne ke zgelovatění) že hustota nabývá hodnot nižších oproti linearitě za každé teploty. Měření při klesající teplotě bylo dokázáno, že karagenan ve vodě je stabilní, nedochází k jeho degradaci či změnám vlastností vlivem vysoké teploty. Kombinací vysoké teploty a vysoké koncentrace sice docházelo ke snížení hustoty, ale tento pokles byl zaznamenán vždy, nezávisle na tom, zda karagenan už prošel ohřevem na 50 °C či nikoliv.

Paralelně s hustotou byla měřena ultrazvuková rychlost karagenanu. I ta s rostoucí koncentrací roste, hodnoty jsou však rozptýlenější. Opačný trend má v závislosti na teplotě, kdy s rostoucí teplotou rychlost zvuku roste. Při vysoké teplotě se částice se pohybují rychleji, dochází k rozvolňování a rozestupu molekul, což sníží hustotu, zatímco zvuk se takovouto strukturou šíří snadněji.

Stejně lineární závislosti karagenanu byly změřeny v prostředí 0,15 mol/l chloridu sodného. Zde jsou hodnoty obou veličin zvýšeny, protože samotný roztok chloridu sodného má vyšší hustotu než voda. Zajímavé je, že hustota chloridu sodného je nižší a nepodporuje lineární trend karagenanu. Začleněním molekul karagenanu do roztoku chloridu sodného dojde k posunutí hodnot hustoty výše. Pro obě prostředí také platí, že při ohřívání dochází ke zvětšování rozdílu ultrazvukové rychlosti a hustoty při stejné koncentraci. Dále bylo prokázáno, že karagenan nepodléhá degradabilním změnám, které by byly způsobeny stárnutím.

Na závěr byla měřena relativní ultrazvuková rychlosti několika vzorků karagenanu o vybrané koncentraci v obou prostředích pomocí ultrazvuku s vysokým rozlišením (HRUSem). Měření po dobu 900 minut zahrnovalo 2 cykly teplotního skenu, kde jeden cyklus představuje ohřívání z 25 °C na 70 °C a ochlazování zpět na 25 °C. Stejný průběh obou cyklů prokazuje stabilitu karagenanu. Měření na ultrazvuku však není vhodné na interpretaci lineární závislosti ultrazvukové rychlosti na koncentraci, tato závislost je prokazatelná pouze při nižší teplotě, při vysokých teplotách dochází k hysterezi.

Teplotní průběh karagenanu ve vodě naznačuje zvyšování rychlosti zvuku s rostoucí teplotou (srovnatelné s densitometrií), po dosažení maxima ultrazvuková rychlost klesá. Ve vodném

prostředí, na rozdíl od prostředí chloridu sodného, nemá ochlazování stejný trend jako při zahřívání. Během měření teplotních cyklů docházelo v intervalu 55 – 30 °C k poklesu relativní ultrazvukové rychlosti při ochlazení, v trendu se vytvoří viditelné oko. Teplotní stálost potvrzuje fakt, že hodnoty relativní rychlosti při ochlazování se na začátku (25 °C) a na konci (70 °C) vrátí ke stejným hodnotám, jaké byly naměřené během zvyšování teploty. Lze říci, že během procesu působení teploty bylo možné pozorovat nějaké změny ve struktuře, ale ve výsledku je relativní rychlost zvuku stejná při ohřevu i ochlazení, nedochází tedy ke změně vlastností.

Při měření relativní ultrazvukové rychlosti karagenanu v chloridu sodném nebyly tyto změny nepozorovány, ohřev a ochlazení mají stejný průběh, stejně tak jednotlivé cykly. Platí, že vlivem prostředí se relativní ultrazvuková rychlost zvýšila. Při porovnání s densitometrií se však zcela odlišně projevuje závislost na teplotě, kde s rostoucí teplotou rychlost zvuku klesá. Tuto neshodu přikládám za vinu novému ultrazvuku, Domnívám se, že takto citlivé měření vyžaduje minimální zásah do pracovního procesu, avšak výměna ultrazvuku byla nevyhnutelná. Dle uvážení by bylo na místě také proměřit i vyšší koncentrace karagenanu v chloridu sodném. Do budoucna se tedy naskytla příležitost danou závislost dále zkoumat.

Získané výsledky měření nachází praktické využití především v popisu teplotního průběhu karagenanu, dále využití konkrétních hodnot naměřené hustoty a ultrazvukové rychlosti pro různé koncentrace. Dále je na základě naměřených dat možné říci, že karagenan je teplotně stálý, lze jej tedy neomezeně použít jako nosiče léků, protože při aplikaci do organismu nedojde k degradaci či změně struktury vlivem teploty.

V bakalářské práci bylo dosaženo všech předepsaných cílů. Výsledkem této práce je charakterizace karagenanu, popis chování hustoty a ultrazvukových vlastností za různých podmínek. Dalším bodem experimentální práce by bylo měření karagenanu v prostředí pufrovaného roztoku a vzájemné porovnání chování, či měření relativní ultrazvukové rychlosti v širším rozsahu koncentrací ultrazvukovou spektroskopií s vysokým rozlišením.

5 CITACE

- [1.] Carrageenans. *The Seaweed Site: information on marine algae* [online]. 2014 [cit. 2015-01-04]. Dostupné z: http://www.seaweed.ie/uses_general/carrageenans.php
- [2.] 2002. *Biopolymers*. Weinheim: Wiley-VCH, s. 247-257. ISBN 3-527-30227-1.
- [3.] 2003. MCHUGH, by Dennis J. *A guide to the seaweed industry*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, s. 61-71. ISBN 9251049580.
- [4.] VALDERRAMA, Diego, Junning CAI, Nathanaël HISHAMUNDA a Neil B RIDLER. 2003. *Social and economic dimensions of carrageenan seaweed farming*. Rome: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 204 pages. FAO fisheries and aquaculture technical paper, 580. ISBN 92-510-7746-0.
- [5.] ROSA, M. Biological properties of carrageenan. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1972, vol. 24, issue 2. ISSN 00223573.
- [6.] LESNICHAYA, M. V., G. P. ALEKSANDROVA, B. G. SUKHOV a A. V. ROKHIN. 2013. Molecular-weight characteristics of galactomannan and carrageenan. *Chemistry of Natural Compounds*. **49**(3): 405-410. DOI: 10.1007/s10600-013-0625-x.
- [7.] CAMPO, Vanessa Leiria, Daniel Fábio KAWANO, Dílson Braz da SILVA a Ivone CARVALHO. 2009. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. *Carbohydrate Polymers*. **77**(2): 167-180. DOI: 10.1016/j.carbpol.2009.01.020.
- [8.] *Hydrocolloid Applications Gum Technology in the Food and Other Industries*. Tullamore, Ireland: Springer Verlag, 2013, s. 41-45. ISBN 9781461379331.
- [9.] DE RUITER, Gerhard A., Brian RUDOLPH, M. MILAS, M. RINAUDO a S. PEREZ. Carrageenan biotechnology: A biological overview. *Trends in Food Science*. 1997, vol. 8, issue 12, s. 389-395.
- [10.] HARDING, Stephen E., Kathryn DAY, Rajesh DHAMI a Philip M. LOWE. 1997. Further observations on the size, shape and hydration of kappa-carrageenan in dilute solution. *Carbohydrate Polymers*. **32**(2): 81-87. DOI: 10.1016/S0144-8617(96)00167-1. ISSN 01448617. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861796001671>
- [11.] REES, D. A. 1981. Polysaccharide shapes and their interactions - some recent advances. *Pure and Applied Chemistry*. **53**(1): 1-14. DOI: 10.1351/pac198153010001.

- [12.] SYED K. H. Gulrez, Saphwan AL-ASSAF and Glyn O PHILLIPS (2011). Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications, Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications, Prof. Angelo Carpi (Ed.), s. 126-127. ISBN: 978-953-307-268-5.
- [13.] SPAGNUOLO, P, D DALGLEISH, H GOFF, E MORRIS, Y. SANO a T. HIYOSHI. 2005. Kappa-carrageenan interactions in systems containing casein micelles and polysaccharide stabilizers. *Food Hydrocolloids*. **19**(3): 183-188. DOI: 10.1016/b978-044450178-3/50083-4.
- [14.] WEBBER, Vanessa, Sabrina Matos de CARVALHO, Paulo José OGLIARI, Leila HAYASHI a Pedro Luiz Manique BARRETO. 2012. Optimization of the extraction of carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* using response surface methodology. *Food Science and Technology (Campinas)*. **32**(4): 812-818. DOI: 10.1590/s0101-20612012005000111.
- [15.] ALI, Majid Khan Majahar, Ahmad FUDHOLI, Jumat SULAIMAN, Mohd Hafidz RUSLAN a Suhaimi Md. YASIR. 2014. Sauna Technique, Drying Kinetic Modeling and Effectiveness on Solar Drying Compared with Direct Drying in Drying Process of *Kappaphycus striatum* in Selakan Island Malaysia. *Energy and Power Engineering*. **06**(09): 117-131. DOI: 10.1002/9781118105818.ch7.
- [16.] VELÍŠEK, Jan. 1999. *Chemie potravin 1*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 328 s. ISBN 80-902-3912-9.
- [17.] DAVIDENKO, T I, G I BONDARENKO, Shirley Y. R. PUGH, Sascha CEYLAN a Andreas KIRSCHNING. 1990. The use of microorganism cells immobilised in carrageenan for the synthesis of organic substances. *Russian Chemical Reviews*. **59**(3): 379-410. DOI: 10.1002/9780470682005.ch13.
- [18.] THOMSON, A. W. THOMSON, E. F FOWLER. *Carrageenan: a review of its effects on the immune system*. bern: Birkhäuser-Verlag, 1981, s. 265-266. ISBN 1023-3830.
- [19.] Byla revidována bezpečnost karagenanu. 2003. *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. [cit. 2015-03-13]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/byla-revidovana-bezpecnost-karagenanu.aspx>
- [20.] Přidatné látky povolené při výrobě potravin. *Státní zemědělská a potravinářská inspekce* [online]. 2015 [cit. 2014-12-30]. Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1000105&docType=ART&nid=11324>
- [21.] BEZPEČNOSTNÍ LIST: Carrageenan. In: *Sigma Aldrich*. 2013.

- [22.] CIBULKA, Ivan, Lubomír HNĚDKOVSKÝ a Vladimír HYNEK. Základní fyzikálně-chemické veličiny a jejich měření. Praha, 2006. Dostupné z: http://www.vscht.cz/fch/cz/pomucky/FCHV_all_7.pdf
- [23.] DAVIES, Adrian a Adrian DAVIES. *The Focal digital imaging A-Z* [online]. 2nd ed. Boston: Elsevier Focal Press, 2005 [cit. 2015-01-08]. ISBN 0240519809.
- [24.] Anton paar. *GE Healthcentre* [online]. 2014 [cit. 2015-01-04]. Dostupné z: <http://www.anton-paar.com/us-en/>
- [25.] KARGEROVÁ, A. a M. PEKAŘ. Densitometry and ultrasound velocimetry of hyaluronan solutions in water and in sodium chloride solution. *Carbohydrate Polymers*. 2014, vol. 106, s. 453-459.
- [26.] Lunar iDXA for Bone Health. *GE Healthcentre* [online]. 2014 [cit. 2015-01-04]. Dostupné z: http://www3.gehealthcare.com/en/products/categories/bone_health/dxa/lunar_idxa_for_bone_health
- [27.] O'DRISCOLL, B., C. SMYTH, A.C. ALTING, R.W. VISSCHER a V. BUCKIN. Recent applications for high – resolution ultrasonic spectroscopy. *American Laboratory*. 2003, s. 54-57.
- [28.] High-Resolution Ultrasonic Spectroscopy: Analysis of Microemulsions. *Spektroskopy*. 2007, **20**(2). Dostupné také z: http://images.alfresco.advanstar.com/alfresco_images/pharma/2014/08/22/532810dc-bafc-4111-919b-7d9594c62ae6/article-146490.pdf
- [29.] *Ultrasonic scientific* [online]. 2007. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z: <http://www.ultrasonic-scientific.com/index.htm>
- [30.] Ultrasonic Testing (UT). 2012. *Advanced technologic testing* [online]. [cit. 2015-04-11]. Dostupné z: <http://www.atg.cz/ndt-121&display=UT>
- [31.] PEKAŘ, Miloslav, Jiří KUČERÍK a Daniela ŠMEJKALOVÁ. Nové možnosti ultrazvukové spektroskopie v koloidní chemii. *CHEMagažín*. 2005, roč. 15, č. 1, s. 12-14.

6 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

λ – karagenan	Lambda – karagenan
κ – karagenan	kappa – karagenan
ι – karagenan	jota – karagenan
μ – karagenan	mí – karagenan
θ – karagenan	théta – karagenan
ξ – karagenan	ksí – karagenan
ν – karagenan	ný – karagenan
β – karagenan	beta – karagenan
HRUS	ultrazvuková spektroskopie s vysokým rozlišením (high resolution ultrasonic spectroscopy)
E 407	označení karagenanu jako stabilizátoru potravin
hm.%	hmotnostní procento, jednotka koncentrace
Da	dalton, jednotka molekulové hmotnosti
pH	záporný dekadický logaritmus aktivity oxoniových iontů
SRC	semi – rafinovaný karagenan (semi – rafinated carrageenan)
HIV	retrovirus (human immunodeficiency virus)
Hz	hertz, jednotka frekvence
3D	trojdimenzionální, trojrozměrný
m	hmotnost
V	objem
n	počet měření
c	koncentrace
m_1	hmotnost pevného karagenanu
m_2	množství karagenanu odpovídající koncentraci zásobního roztoku
V_1	objem zásobního roztoku
V_2	objem rozpouštědla
V_0	objem vzorku
$c_{\text{skutečná}}$	skutečná koncentrace
$c_{\text{prům.}}$	průměrná koncentrace
$\rho_{\text{prům.}}$	průměrná hustota
ρ_{odchylka}	směrodatná odchylka hustoty
ν_1	první měření ultrazvukové rychlosti
ν_2	druhé měření ultrazvukové rychlosti
$\nu_{\text{prům.}}$	průměrná ultrazvuková rychlost
ν_{odchylka}	směrodatná odchylka hustoty

7 PŘÍLOHA

Tabulka X1: Kalibrační řada 1. a 2.

Zásobní roztok 1 g/l					Zásobní roztok 3 g/l				
<i>n</i>	<i>c</i> [g/l]	<i>V</i> ₀ [ml]	<i>V</i> ₁ [ml]	<i>V</i> ₂ [ml]	<i>n</i>	<i>c</i> [g/l]	<i>V</i> ₀ [ml]	<i>V</i> ₁ [ml]	<i>V</i> ₂ [ml]
1	0,001	10	0,001	0,999	1	1,25	10	4,2	5,8
2	0,010	10	0,100	0,900	2	1,50	10	5,0	5,0
3	0,100	10	1,000	9,000	3	1,75	10	5,8	4,2
4	0,200	10	2,000	8,000	4	2,00	10	6,7	3,3
5	0,500	10	5,000	5,000	5	2,25	10	7,5	2,5
6	0,700	10	7,000	3,000	6	2,50	10	8,3	1,7
					7	2,75	10	9,2	0,8

Tabulka X2: Kalibrační řada 3. a 4. karagenanu ve vodě.

<i>n</i>	<i>c</i> [g/l]	<i>V</i> ₀ [ml]	<i>m</i> ₁ [g]	<i>c</i> _{skutečná} [g/l]	<i>n</i>	<i>c</i> [g/l]	<i>V</i> ₀ [ml]	<i>m</i> ₁ [g]	<i>c</i> _{skutečná} [g/l]
Kalibrační řada 3. pro první měření					Kalibrační řada 4. pro první měření				
1	3,5	10	0,0353	3,53	1	6,5	10	0,0652	6,52
2	4,0	10	0,0398	3,98	2	7,0	10	0,0705	7,05
3	4,5	10	0,0450	4,50	3	7,5	10	0,0748	7,48
4	5,0	10	0,0501	5,01	4	8,0	10	0,0802	8,02
5	5,5	10	0,0550	5,50	5	8,5	10	0,0850	8,50
6	6,0	10	0,0601	6,01	6	9,0	10	0,0899	8,99
					7	9,5	10	0,0951	9,51
					8	10	10	0,1004	10,04
Kalibrační řada 3. pro druhé měření					Kalibrační řada 4. pro druhé měření				
1	3,5	10	0,0349	3,49	1	6,5	10	0,0650	6,50
2	4,0	10	0,0403	4,03	2	7,0	10	0,0700	7,00
3	4,5	10	0,0451	4,51	3	7,5	10	0,0751	7,51
4	5,0	10	0,0500	5,00	4	8,0	10	0,0803	8,03
5	5,5	10	0,0554	5,54	5	8,5	10	0,0850	8,50
6	6,0	10	0,0603	6,03	6	9,0	10	0,0898	8,98
					7	9,5	10	0,0951	9,51
					8	10	10	0,1004	10,04

Tabulka X3: Kalibrační řada 3. a 4. karagenanu v chloridu sodném.

<i>n</i>	<i>c</i> [g/l]	<i>V</i> ₀ [ml]	<i>m</i> ₁ [g]	<i>c</i> skutečná [g/l]	<i>n</i>	<i>c</i> [g/l]	<i>V</i> ₀ [ml]	<i>m</i> ₁ [g]	<i>c</i> skutečná [g/l]
Kalibrační řada 3. pro první měření					Kalibrační řada 4. pro první měření				
1	3,5	10	0,0350	3,50	1	6,5	10	0,0652	6,52
2	4,0	10	0,0400	4,00	2	7,0	10	0,0704	7,04
3	4,5	10	0,0449	4,49	3	7,5	10	0,0752	7,52
4	5,0	10	0,0500	5,00	4	8,0	10	0,0806	8,06
5	5,5	10	0,0550	5,50	5	8,5	10	0,0855	8,55
6	6,0	10	0,0600	6,00	6	9,0	10	0,0899	8,99
					7	9,5	10	0,0950	9,50
					8	10	10	0,1000	10,00
Kalibrační řada 3. pro druhé měření					Kalibrační řada 4. pro druhé měření				
1	3,5	10	0,0353	3,53	1	6,5	10	0,0652	6,52
2	4,0	10	0,0400	4,00	2	7,0	10	0,0699	6,99
3	4,5	10	0,0451	4,51	3	7,5	10	0,0751	7,51
4	5,0	10	0,0500	5,00	4	8,0	10	0,0800	8,00
5	5,5	10	0,0550	5,50	5	8,5	10	0,0850	8,50
6	6,0	10	0,0601	6,01	6	9,0	10	0,0902	9,02
					7	9,5	10	0,0953	9,53
					8	10	10	0,1003	10,03

Tabulka X4: Průměrné hodnoty hustoty karagenanu ve vodě naměřené při 20 °C.

$c_{\text{prům.}}$ [g/l]	$\rho_{\text{prům.}}$ [g/cm ³]	ρ_{odchylka} [g/cm ³]
0,001	0,998245	$1,6197 \cdot 10^{-5}$
0,010	0,998246	$1,6971 \cdot 10^{-5}$
0,100	0,998287	$1,6971 \cdot 10^{-5}$
0,200	0,998332	$1,4849 \cdot 10^{-5}$
0,500	0,998456	$1,9092 \cdot 10^{-5}$
0,700	0,998493	$1,4142 \cdot 10^{-5}$
1,000	0,998678	$1,3904 \cdot 10^{-5}$
1,250	0,998787	$3,5000 \cdot 10^{-5}$
1,500	0,998875	$8,5000 \cdot 10^{-6}$
1,750	0,998980	$1,1000 \cdot 10^{-5}$
2,000	0,999038	$1,0297 \cdot 10^{-4}$
2,500	0,997149	$3,1138 \cdot 10^{-5}$
2,750	0,999425	$2,3000 \cdot 10^{-5}$
3,510	0,999806	$1,6000 \cdot 10^{-5}$
4,015	0,999863	$2,4042 \cdot 10^{-5}$
4,505	1,000222	$4,2426 \cdot 10^{-6}$
5,000	1,000558	$2,3335 \cdot 10^{-5}$
5,520	1,000664	$3,8184 \cdot 10^{-5}$
6,020	1,000812	$1,2728 \cdot 10^{-5}$
6,510	1,000992	$9,2154 \cdot 10^{-5}$
7,025	1,001286	$8,2731 \cdot 10^{-5}$
7,495	1,001670	$4,1012 \cdot 10^{-5}$
8,025	1,001906	$5,7983 \cdot 10^{-5}$
8,500	1,002025	$1,4142 \cdot 10^{-5}$
8,985	1,002404	$1,6051 \cdot 10^{-4}$
9,503	1,002488	$4,0305 \cdot 10^{-5}$
10,030	1,002218	$3,0406 \cdot 10^{-5}$

Tabulka X5: Průměrné hodnoty hustoty karagenanu ve vodě naměřené při 50 °C.

$c_{\text{prům.}}$ [g/l]	$\rho_{\text{prům.}}$ [g/cm ³]	ρ_{odchylka} [g/cm ³]
0,001	0,988083	$1,8193 \cdot 10^{-5}$
0,010	0,988087	$1,4849 \cdot 10^{-5}$
0,100	0,988118	$7,7782 \cdot 10^{-6}$
0,200	0,988168	$1,1314 \cdot 10^{-5}$
0,500	0,988289	$1,7678 \cdot 10^{-5}$
0,700	0,988330	$4,0305 \cdot 10^{-5}$
1,000	0,988500	$1,3928 \cdot 10^{-5}$
1,250	0,988466	$1,1150 \cdot 10^{-4}$
1,500	0,988512	$1,1500 \cdot 10^{-5}$
1,750	0,988631	$2,0000 \cdot 10^{-5}$
2,000	0,988857	$6,0362 \cdot 10^{-5}$
2,250	0,988970	$2,5500 \cdot 10^{-5}$
2,500	0,988988	$1,6557 \cdot 10^{-5}$
2,750	0,989167	$1,1500 \cdot 10^{-5}$
3,000	0,989255	$1,3000 \cdot 10^{-5}$
3,510	0,989420	$2,5000 \cdot 10^{-5}$
4,015	0,989591	$1,6000 \cdot 10^{-5}$
4,505	0,989607	$3,8000 \cdot 10^{-5}$
5,000	0,990274	$3,7477 \cdot 10^{-5}$
5,520	0,990299	$1,3435 \cdot 10^{-5}$
6,020	0,990302	$3,2146 \cdot 10^{-5}$
6,510	0,990332	$1,4142 \cdot 10^{-5}$
7,025	0,990357	$1,1314 \cdot 10^{-5}$
7,495	0,990608	$1,0628 \cdot 10^{-3}$
8,025	0,991072	$6,3003 \cdot 10^{-4}$
8,500	0,991755	$4,2356 \cdot 10^{-4}$
8,985	0,991484	$6,2243 \cdot 10^{-4}$
9,503	0,991739	$3,7113 \cdot 10^{-4}$
10,030	0,991240	$7,5831 \cdot 10^{-4}$

Tabulka X6: Průměrné hodnoty ultrazvukové rychlosti karagenanu ve vodě naměřené při 20 °C.

$c_{\text{prům.}}$ [g/l]	$v_{\text{prům.}}$ [m/s]	v_{odchylka} [m/s]
0,001	1483,090	0,616523
0,010	1482,785	0,007071
0,100	1482,905	0,106066
0,200	1482,920	0,042426
0,500	1482,970	0,183848
0,700	1483,090	0,028284
1,000	1483,167	0,047958
1,250	1483,220	0,141421
1,500	1483,280	0,010000
1,750	1483,515	0,075000
2,000	1483,393	0,096792
2,250	1483,415	0,025000
2,500	1483,550	0,094163
2,750	1483,775	0,235000
3,000	1483,790	0,100000
3,510	1483,695	0,247487
4,015	1484,098	0,670000
4,505	1484,220	0,050000
5,000	1484,252	0,148492
5,520	1484,260	0,410122
6,020	1484,407	0,300222
6,510	1484,680	0,353553
7,025	1484,685	0,289914
7,495	1485,000	0,056569
8,025	1484,795	0,275772
8,500	1485,405	0,063640
8,985	1485,427	0,344287
9,503	1485,320	0,384318
10,030	1484,878	0,335961

Tabulka X7: Průměrné hodnoty ultrazvukové rychlosti karagenanu ve vodě naměřené při 50 °C.

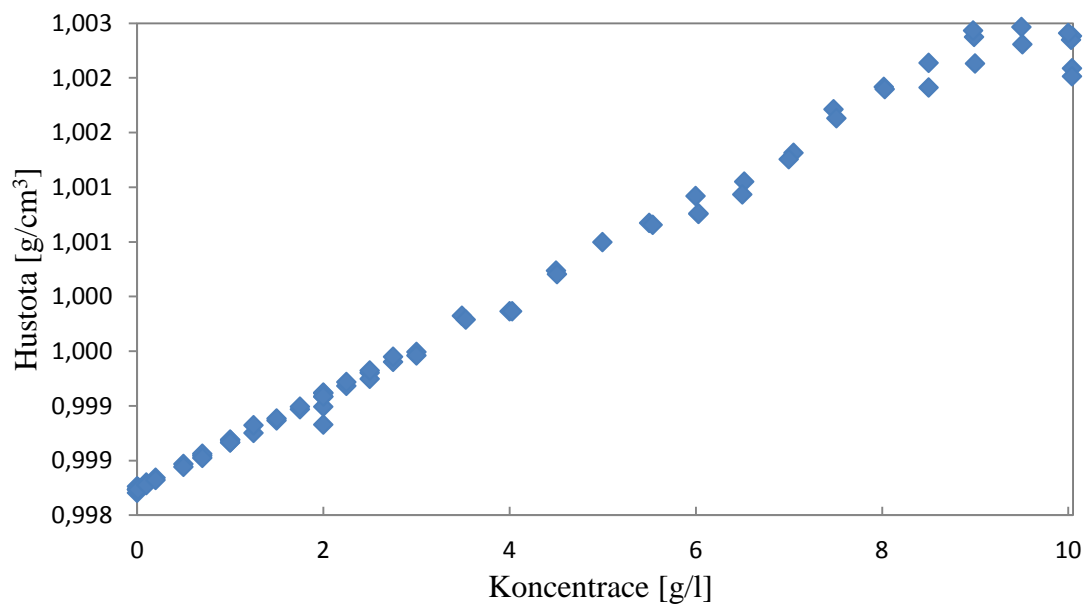
$c_{\text{prům.}}$ [g/l]	$v_{\text{prům.}}$ [m/s]	v_{odchylka} [m/s]
0,001	1483,090	0,616523
0,010	1482,785	0,007071
0,100	1482,905	0,106066
0,200	1482,920	0,042426
0,500	1482,970	0,183848
0,700	1483,090	0,028284
1,000	1483,167	0,047958
1,250	1483,220	0,141421
1,500	1483,280	0,010000
1,750	1483,515	0,075000
2,000	1483,393	0,096792
2,250	1483,415	0,025000
2,500	1483,550	0,094163
2,750	1483,775	0,235000
3,000	1483,790	0,100000
3,510	1483,695	0,247487
4,015	1484,098	0,670000
4,505	1484,220	0,050000
5,000	1484,252	0,148492
5,520	1484,260	0,410122
6,020	1484,407	0,300222
6,510	1484,680	0,353553
7,025	1484,685	0,289914
7,495	1485,000	0,056569
8,025	1484,795	0,275772
8,500	1485,405	0,063640
8,985	1485,427	0,344287
9,503	1485,320	0,384318
10,030	1484,878	0,335961

Tabulka X8: Porovnání metod pro karagenan ve vodě.

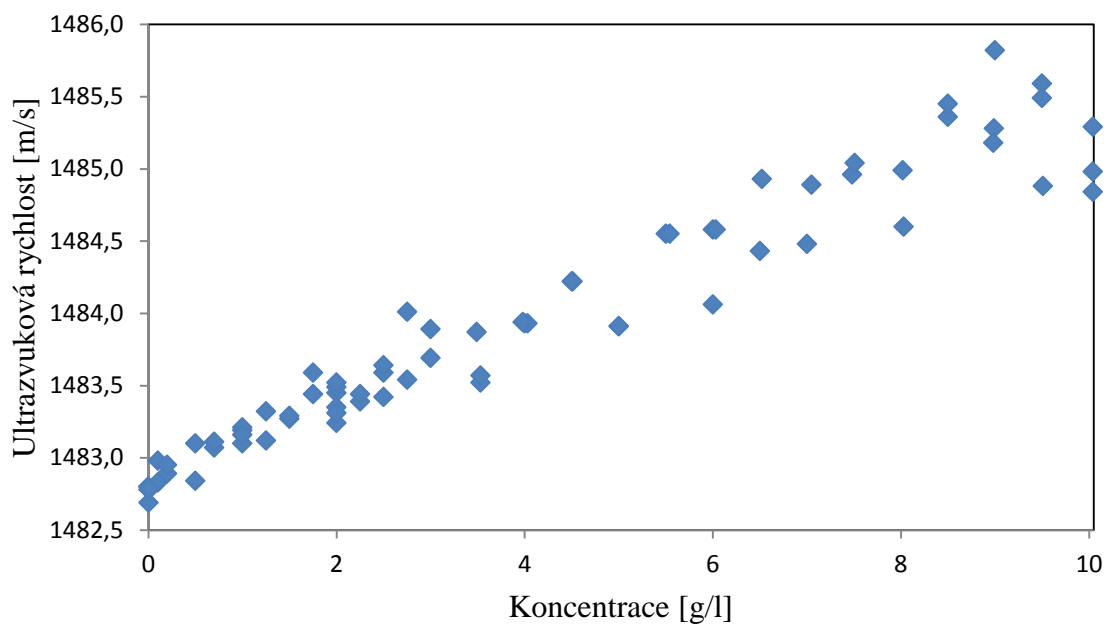
Densitometrie				Ultrazvuková spektroskopie				
<i>c</i> [g/l]	<i>v</i> ₁ [m/s]	<i>v</i> ₂ [m/s]	<i>v</i> _{prům.} [m/s]	<i>c</i> [g/l]	<i>v</i> ₁ [m/s]	<i>v</i> ₂ [m/s]	<i>v</i> _{prům.} [m/s]	<i>v</i> _{odchylka} [m/s]
0,01	1496,78	1496,79	1496,79	0,01	1497,027	1497,049	1497,04	0,17877
0,05	1496,84	1497,06	1496,95	0,05	1497,125	1497,136	1497,13	0,127438
1,00	1497,17	1497,13	1497,15	1,00	1497,252	1497,273	1497,26	0,079419
5,00	1497,86	1497,86	1497,86	5,00	1497,249	1497,266	1497,26	0,426027

Tabulka X9: Porovnání metod pro karagenan v chloridu sodném.

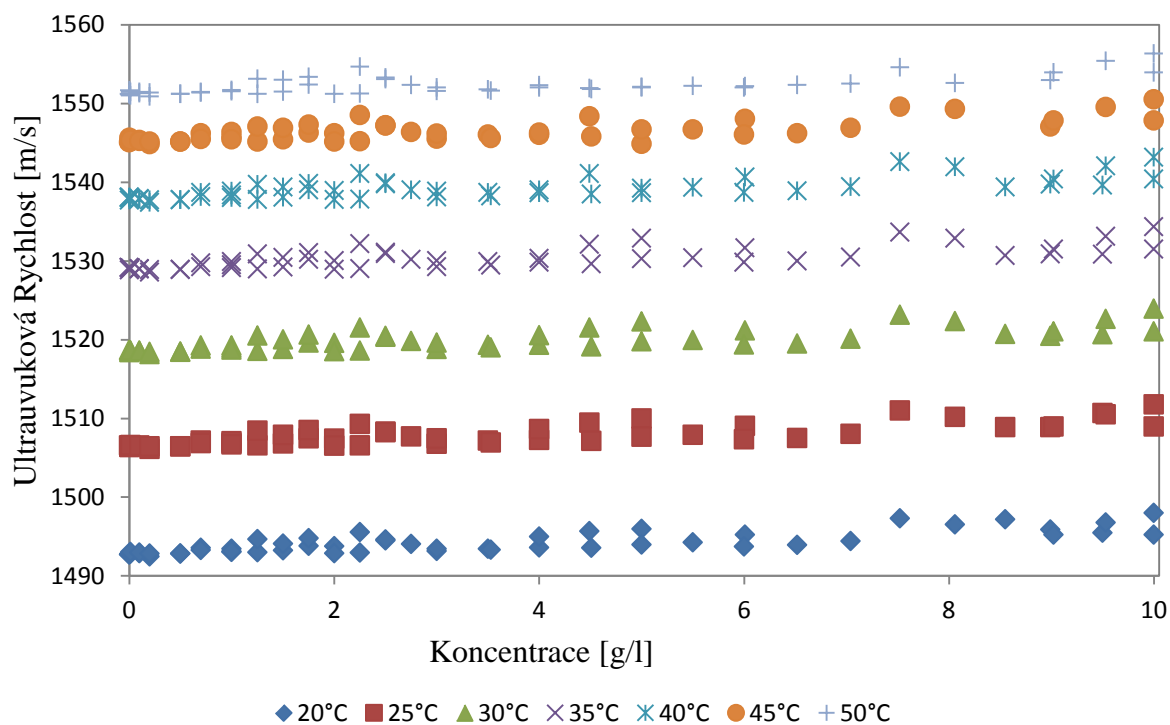
Densitometrie				Ultrazvuková spektroskopie				
<i>c</i> [g/l]	<i>v</i> ₁ [m/s]	<i>v</i> ₂ [m/s]	<i>v</i> _{prům.} [m/s]	<i>c</i> [g/l]	<i>v</i> ₁ [m/s]	<i>v</i> ₂ [m/s]	<i>v</i> _{prům.} [m/s]	<i>v</i> _{odchylka} [m/s]
0,01	1506,49	1506,63	1506,56	0,01	1506,608	1507,101	1506,85	0,20816
0,05	1506,45	1506,46	1506,46	0,05	1507,794	1508,176	1507,98	1,081776
1,00	1506,88	1507,12	1507,00	1,00	1506,425	1507,163	1506,79	0,145513



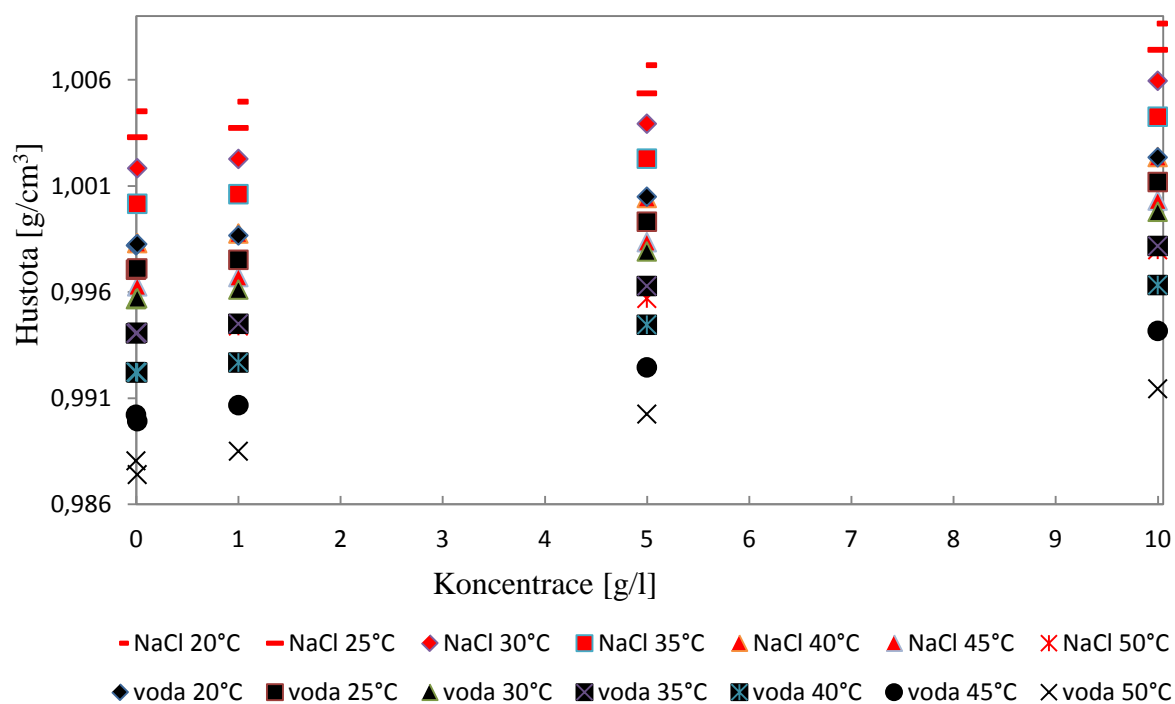
Graf X1: Závislost hustoty na koncentraci od 0,001 g/l po 10 g/l karagenanu ve vodě při teplotě 20 °C.



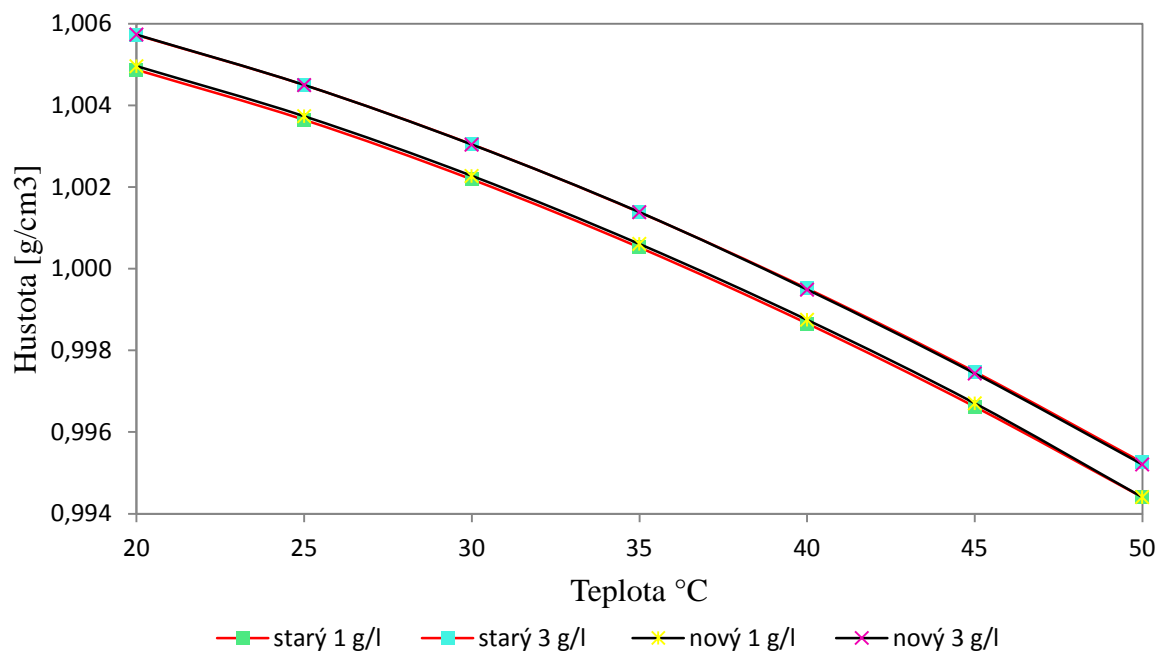
Graf X2: Závislost ultrazvukové rychlosti na koncentraci karagenanu ve vodě od 0,001 g/l po 10 g/l při teplotě 20 °C.



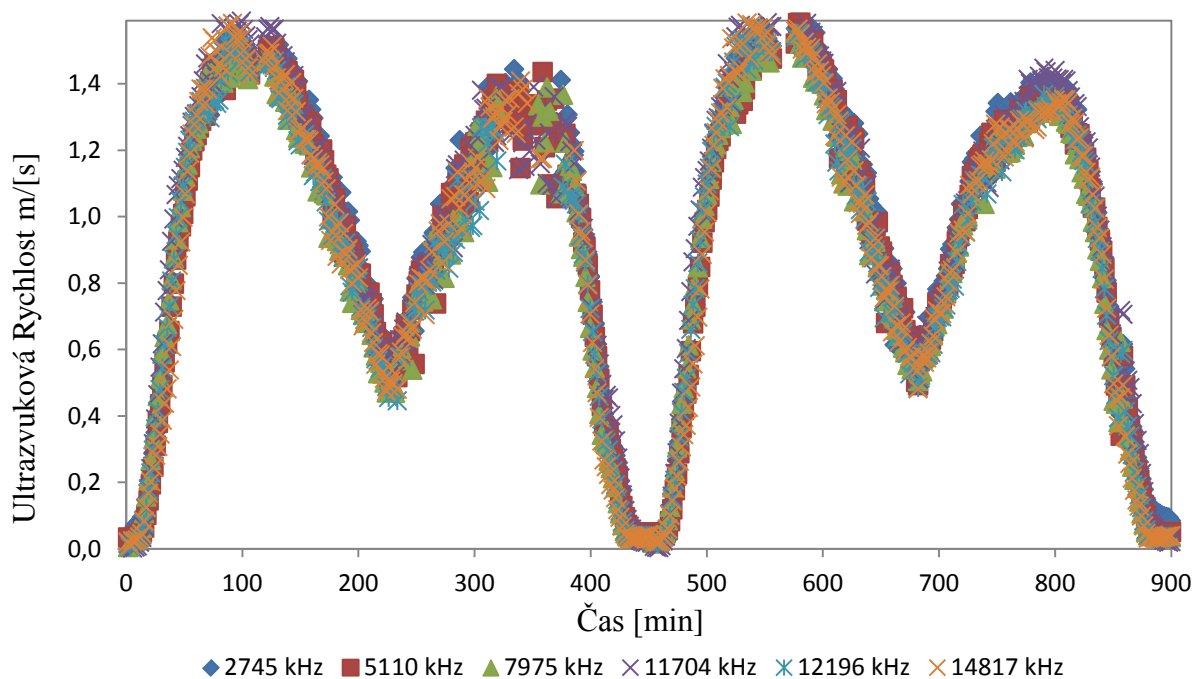
Graf X3: Znázornění závislosti ultrazvukové rychlosti na celkové škále koncentrací od 0,001 g/l po 10 g/l vzorků karagenanu v chloridu sodném při teplotě 20 – 50 °C.



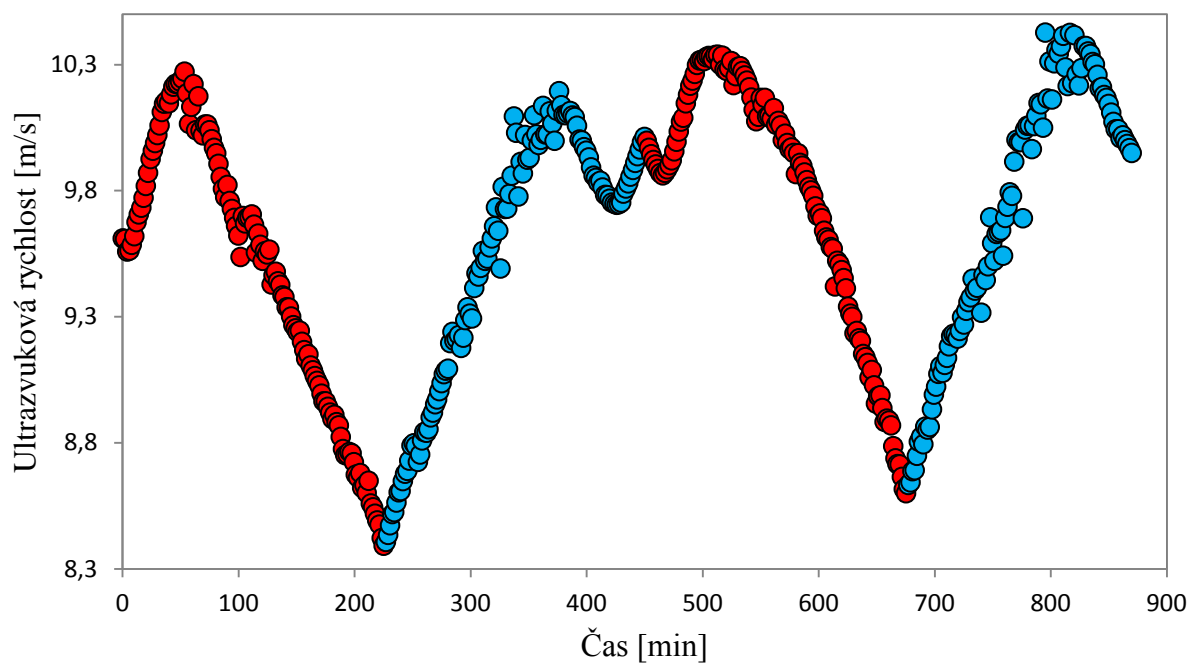
Graf X4: Závislost hustoty na koncentraci karagenanu v chloridu sodném a ve vodě o koncentraci 0,01 g/l, 1 g/l, 5 g/l a 10 g/l při teplotě 20 – 50 °C.



Graf X5: Závislost hustoty na teplotě v intervalu 20 – 50 °C s krokem 5 °C pro koncentrace 1 g/l a 3 g/l různého stáří.



Graf X6: Záznam závislosti ultrazvukové rychlosti vzorku karagenanu ve vodě o koncentraci 1 g/l na čase při dvou po sobě jdoucích cyklech teplotního skenu. Záznamněno šest zvukových vln o různé frekvenci (viz legenda).



Graf X7: Závislost ultrazvukové rychlosti vzorku karagenanu v chloridu sodném o koncentraci 0,1 g/l na čase při dvou po sobě jdoucích skenech. Příklad měření při frekvenci 12 196 kHz.